



**Joana Plácido da Fonseca**

Licenciatura em Engenharia Biomédica

## **Novas Suturas à Base de Nanofibras Poliméricas**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Biomédica

Orientador: Jorge Carvalho Silva, Prof. Auxiliar, FCT/UNL  
Co-orientadores: Célia Henriques, Prof. Auxiliar, FCT/UNL  
João Paulo Borges, Prof. Auxiliar, FCT/UNL  
Dr.<sup>a</sup> Maria Angélica Roberto, Hosp. São José

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Mário Secca  
Arguente: Prof. Doutor João O'Neill  
Vogais: Prof. Doutor Jorge Carvalho Silva;  
Doutora Maria Angélica Roberto



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Dezembro de 2011**

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



# Agradecimentos

Começo por agradecer aos meus orientadores, Professor Jorge Carvalho Silva e Professora Célia Henriques por todo o apoio e acompanhamento que me proporcionaram durante o trabalho. Agradeço também ao meu co-orientador Professor João Paulo Borges pela sua disponibilidade.

De igual forma agradeço toda a ajuda e disponibilidade da Doutora Maria Angélica Roberto.

A todos os membros do Departamento de Física (DF) da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa o meu agradecimento por me terem facultado a oportunidade de executar este projecto.

Agradeço aos meus colegas pelo apoio e companheirismo proporcionado durante o projecto.

Por último quero agradecer aos meus pais e amigos todo o apoio e compreensão ao longo de todo o processo.

# Resumo

As suturas são dispositivos médicos utilizados na aproximação dos bordos de feridas cirúrgicas ou acidentais. O objectivo deste trabalho consistiu em produzir um fio de sutura com base num material polimérico biodegradável. Para a produção do fio utilizou-se a técnica de electrofiação que permite a obtenção de fibras de diâmetro sub-micrométrico a partir de soluções poliméricas. Os polímeros usados foram a policaprolactona (PCL) e o acetato de celulose (AcCel), polímero sintético e natural, respectivamente. Usaram-se como solventes o clorofórmio e a dimetilacetamida. Foram realizados ensaios mecânicos para caracterizar as propriedades mecânicas das fibras. As fibras compostas por PCL e AcCel apresentaram tensão máxima inferior e módulo de Young superior às fibras de PCL. Concluiu-se que a adição de acetato de celulose tornou as fibras menos elásticas, como era esperado. Quando submetidos a deformações cíclicas, ambos os tipos de fibras mostraram um comportamento idêntico ao apresentado por uma amostra do mesmo material numa única tracção. Para obter os fios, utilizaram-se dois instrumentos de corte. Depois de alongados obtiveram-se fios com calibres correspondentes a 5-0 e 4-0, segundo a classificação da Pharmacopeia dos Estados Unidos. De seguida foram feitos testes *in vivo* em dois ratos de laboratório, da estirpe Wistar. Durante o procedimento cirúrgico os fios mostraram ser de fácil manuseamento permitindo um bom atravessamento dos tecidos. Observou-se uma boa regeneração dos tecidos apresentando uma cicatrização limpa e com bom aspecto. Os fios de sutura desenvolvidos neste trabalho reúnem as vantagens das suturas mono-filamento e multi-filamento sem nenhuma das respectivas desvantagens.

# Resume

Sutures are medical devices used in bringing together the edges of accidental or surgical wounds. The purpose of this work consisted in producing a suture based on a biodegradable polymeric material. For the suture production the electrospinning technique was used, which allows us to obtain sub-micrometer diameter fibers from polymeric solutions. The polymers used were polycaprolactone (PCL) and cellulose acetate, synthetic and natural polymers, respectively. As solvents, chloroform and dimethylacetamide were used. Mechanical tests were performed to characterize the mechanical properties of the fibers. Fibers composed of PCL and cellulose acetate showed lower maximum stress and higher Young's modulus than the fibers of PCL. With the addition of cellulose acetate the fibers became less elastic, as expected. When submitted a cyclic deformation, both types of fibers showed a behavior identical to that presented by a sample of the same material in a single traction. To obtain the sutures, we used two cutting instruments. After elongation, sutures with sizes corresponding to 5-0 and 4-0, as defined by the U.S. Pharmacopeia, were obtained. Then, in vivo tests were performed in two laboratory rats of the strain Wistar. During the surgical procedure the sutures proved to be easy to handle allowing a smooth crossing of the tissues. The surgical wounds presented a clean and good look during wound healing. The sutures developed in this work combine the advantages of monofilament and multifilament sutures without any of their disadvantages.

# Índice

## Capítulo 1 – Introdução

### 1.1 Suturas

1.1.1	História das Suturas.....	2
1.1.2	Classificação das Suturas.....	3

### 1.2 Electrofiação

1.2.1	História da Electrofiação.....	8
1.2.2	Processo de Electrofiação.....	9
1.2.3	Soluções utilizadas na Electrofiação.....	12

## Capítulo 2 - Materiais e Métodos

### 2.1 Materiais.....15

### 2.2 Métodos

2.2.1	Processo de Electrofiação.....	17
2.2.2	Microscópio Electrónico de Varrimento (SEM).....	19
2.2.3	Ensaio Mecânicos.....	20
2.2.4	Microscópio Electrónico de Varrimento -2.....	22
2.2.5	Difracção de raios – X.....	22
2.2.6	Produção de fios.....	23
2.2.7	Testes <i>in vivo</i> .....	24

## Capítulo 3 - Apresentação e Discussão de Resultados

3.1	Processo de Electrofiação.....	27
3.2	Microscópio Electrónico de Varrimento (SEM).....	31
3.3	Ensaio Mecânicos.....	33
3.4	Microscópio Electrónico de Varrimento – 2.....	49
3.5	Difracção de raios – X.....	50
3.6	Produção de fios.....	52
3.7	Testes <i>in vivo</i> .....	54
3.8	Análise Histológica.....	59

## Capítulo 4 – Conclusão.....69

## Bibliografia.....71

## Anexos.....73

# Índice de Figuras

1.1 - Exemplo de uma sutura.....	2
1.2 - Exemplos de suturas.....	4
1.3 – Tipo de sutura segundo a sua estrutura. (a) monofilamento; (b) multifilamento; (c) Revestido ou pseudo- monofilamento; (d) revestido multifilamento [5].....	6
1.4 – Três nós principais de sutura (a) Quadrado; (b) “granny”; (c) Nó de cirurgião [9].....	8
1.5 – Montagem esquemática do electrospinning [17].....	9
1.6 – Deposição de fibras de PCL e Acetato de Celulose observadas no (a) Microscópio Óptico (Objectiva 10x); (b) SEM.....	10
1.7 – Estrutura da $\epsilon$ – caprolactona [18].....	13
2.1 – Esquema representativo dos pontos onde foram medidos as espessuras das amostras.....	20
2.2 – Esquema representativo dos fragmentos da amostra de S8, que quebrou em duas camadas.....	22
2.3 – Instrumentos de corte utilizados.....	23
2.4 – Incisões realizadas no rato ST1.....	25
3.1 - Imagens das deposições observadas no SEM (a) S6; (b) S8 (c) S8-3; (d) S9; (e) S10 e (f) S11.....	32
3.2 - Tensão <i>versus</i> Extensão das amostras da solução S6 traccionadas até à ruptura.....	33
3.3 - Tensão <i>versus</i> Extensão das amostras da solução S8 traccionadas até à ruptura.....	34
3.4 - Tensão <i>versus</i> Extensão das amostras da Solução S8-2 traccionadas até à ruptura.....	35

3.5 - Tensão <i>versus</i> Extensão das amostras da solução S8-3 traccionadas até à ruptura.....	37
3.6 - Tensão <i>versus</i> Extensão das amostras da solução S9 traccionadas até à ruptura.....	38
3.7 - Tensão <i>versus</i> Extensão das amostras da solução S10 traccionadas até à ruptura.....	39
3.8 - Tensão <i>versus</i> Extensão das amostras da solução S11 traccionadas até à ruptura.....	40
3.9 - Extensão à ruptura em função da concentração de acetato de celulose.....	41
3.10 - Tensão à ruptura em função da concentração de acetato de celulose.....	41
3.11 – Módulo de Young em função da concentração de acetato de celulose.....	41
3.12 – Resultados obtidos para 1 ciclo de histerese mecânica das amostras de S6.....	43
3.13 – Força <i>versus</i> Alongamento da amostra 24 de S6.....	44
3.14 – Tensão <i>versus</i> Extensão da amostra 24 de S6.....	45
3.15 - Força <i>versus</i> Alongamento da amostra 1 de S15.....	47
3.16 – Tensão <i>versus</i> Extensão da amostra 1 de S15.....	47
3.17 - Imagens dos fragmentos da amostra de S8-2 observadas no SEM (a) A1; (b) B1 (c) A2; (d) B2; (e) B2-2.....	50
3.18 – Gráficos normalizados das amostras sujeitas à difracção de raios-x.....	51
3.19 - Rato ST1, primeiro dia (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4.....	54
3.20 - Rato ST1, primeiro dia (zoom). (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4.....	54
3.21 - Rato ST2, primeiro dia (a) Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25.....	55
3.22 - Rato ST2, primeiro dia (zoom) (a) Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25.....	55
3.23 - Rato ST1, dois dias (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4.....	55

3.24 - Rato ST2, dois dias (a) Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25.....	55
3.25 - Rato ST1, sete dias (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4.....	56
3.26 - Rato ST2, sete dias, Amostra 22.....	56
3.27 - Rato ST2, sete dias, Amostra Controlo.....	56
3.28 - Rato ST2, sete dias, Amostra 25.....	56
3.29 - Rato ST1, catorze dias (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4.....	57
3.30 e 3.31- Rato ST2, catorze dias (a) Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25.....	57
3.32 - Rato ST1, vinte dias (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4.....	57
3.33 - Rato ST2, vinte dias (a) Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25.....	58
3.34 – Amostra Controlo (Objectiva 4x).....	59
3.35 – Amostra Controlo (Objectiva 10x).....	59
3.36 – Amostra Controlo (Objectiva 10x).....	60
3.37 – Amostra Controlo (Objectiva 10x).....	60
3.38 – Amostra 1 (Objectiva 4x).....	60
3.39 – Amostra 1 (Objectiva 10x).....	60
3.40 – Amostra 1 (Objectiva 40x).....	60
3.41 – Amostra 1 (Objectiva 4x).....	61
3.42 – Amostra 1 (Objectiva 10x).....	61
3.43 – Amostra 1 (Objectiva 40x).....	61
3.44 – Amostra 4 (Objectiva 10x).....	62
3.45 – Amostra 4 (Objectiva 10x).....	62
3.46 – Amostra 4 (Objectiva 40x).....	62
3.47 – Amostra 4 (Objectiva 40x).....	62
3.48 – Amostra 4 (Objectiva 4x).....	62

3.49 – Amostra 4 (Objectiva 10x).....	62
3.50 – Amostra 4 (Objectiva 40x).....	63
3.51 – Amostra 4 (Objectiva 40x).....	63
3.52 – Amostra Controlo (Objectiva 4x).....	63
3.53 – Amostra Controlo (Objectiva 10x).....	63
3.54 – Amostra Controlo (Objectiva 40x).....	63
3.55 – Amostra Controlo (Objectiva 4x).....	64
3.56 – Amostra Controlo (Objectiva 10x).....	64
3.57 – Amostra 22 (Objectiva 4x).....	64
3.58 – Amostra 22 (Objectiva 10x).....	64
3.59 – Amostra 22 (Objectiva 40x).....	65
3.60 – Amostra 22 (Objectiva 4x).....	65
3.61 – Amostra 22 (Objectiva 10x).....	65
3.62 – Amostra 22 (Objectiva 40x).....	65
3.63 – Amostra 25 (Objectiva 4x).....	66
3.64 – Amostra 25 (Objectiva 10x).....	66
3.65 – Amostra 25 (Objectiva 40x).....	66
3.66 – Amostra 25 (Objectiva 4x).....	67
3.67 – Amostra 25 (Objectiva 10x).....	67



# Índice de tabelas

1.1 - Exemplos de materiais utilizados nos vários tipos de suturas [4].....	4
1.2 - Calibres das suturas absorvíveis não sintéticas e suturas não absorvíveis e absorvíveis sintéticas e os diâmetros correspondentes, segundo a Pharmacopeia dos Estados unidos [5,7].....	5
1.3 - Calibres de suturas e os respectivos valores de força nos nós das suturas para suturas Absorvíveis Sintéticas, segundo a Pharmacopeia dos Estados Unidos [7].....	5
1.4 - Propriedades dos solventes Acetona, N,N – Dimetilacetamida e clorofórmio [22]. ....	14
2.1 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e acetona.....	17
2.2 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e N,N – dimetilacetamida.....	18
2.3 - Composição das soluções em que o solvente usado foi o clorofórmio.....	18
2.4 - Composição das soluções em que o solvente usado foi a N,N – dimetilacetamida.....	18
3.1 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e acetona.....	27
3.2 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e N,N – dimetilacetamida.....	28
3.3 - Composição das soluções em que o solvente usado foi o clorofórmio.....	30
3.4 - Composição das soluções em que o solvente usado foi a N,N – dimetilacetamida.....	30
3.5 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S6.....	33

3.6 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S8.....	34
3.7 - Média e Desvio Padrão dos valores determinados das amostras de S8-2.....	36
3.8 - Média e Desvio Padrão dos valores determinados das amostras de S8-3.....	37
3.9 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S9.....	38
3.10 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S10.....	39
3.11 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S11.....	40
3.12 – Média e desvio padrão dos valores das amostras de S6 sujeitas ao teste de compressão.....	43
3.13 – Tensão inicial e final dos testes de tracção e compressão, respectivamente, de S6.....	45
3.14 – Tensão inicial e final dos testes de tracção e compressão, respectivamente, de S15.....	48
3.15 - Valores característicos de cada amostra após os ajustes dos respectivos picos.....	51
3.16 - Calibres das suturas não absorvíveis e absorvíveis sintéticas e respectivos diâmetros e áreas.....	53
3.17 – Valores iniciais e finais dos fios escolhidos para os testes <i>in vivo</i> .....	53
3.18 – Áreas das secções dos fios obtidos.....	54

# Capítulo 1

## Introdução

Este projecto teve como principal objectivo o desenvolvimento de um novo tipo de sutura à base de nanofibras de polímeros biodegradáveis. Para tal foram utilizados os polímeros poli ( $\epsilon$  – caprolactona) e acetato de celulose, polímero sintético e natural, respectivamente. A técnica de produção de fibras utilizada foi o *electrospinning* e procurou-se determinar a melhor configuração deste sistema de deposição de nanofibras que melhor se adequasse à produção de um fio de sutura.

O estudo da medicina começou há muitos séculos atrás. Na Grécia antiga existiu um estudioso que mudou o conceito da medicina tornando-a numa ciência. Foi Hipócrates, o pai da medicina, responsável por essas mudanças. Desde a antiguidade que a ciência tem vindo a evoluir a um ritmo alucinante. Juntamente com esta evolução deu-se o desenvolvimento da engenharia e da ciência abrangente. A engenharia é comumente conhecida por combinar princípios básicos de todas as áreas, como por exemplo os materiais, a física, a medicina e a electrónica, entre muitos outros. Tem-se registado um grande progresso nas ciências médicas e na tecnologia associada. Como exemplos temos todos os dispositivos médicos que auxiliam a medicina no tratamento e no diagnóstico das doenças.

## 1.1 Suturas

As suturas são, actualmente, consideradas dispositivos médicos e o seu uso tem-se registado desde os tempos primórdios.

Os fios de suturas são definidos como sendo instrumentos que auxiliam na cicatrização de um ferimento uma vez que unem os bordos dos tecidos vivos que foram danificados voluntariamente, como no caso de operações, ou involuntariamente, resultado de um acidente, por exemplo. Na Figura 1.1 pode-se observar um exemplo de uma sutura, utilizada actualmente.

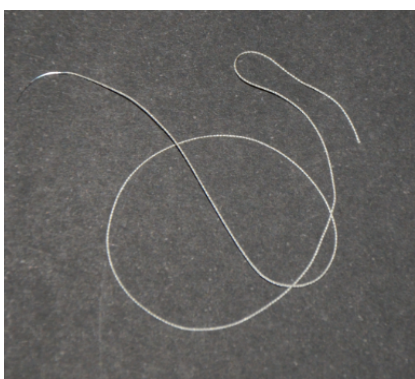


Figura 1.1 : Exemplo de uma sutura

Antes de serem consideradas suturas viáveis, elas devem respeitar um conjunto de critérios que definem o carácter da sutura. Nestes critérios estão incluídos: o manuseamento acessível; devem evitar provocar reacções significativas nos tecidos; devem possuir uma resistência à tracção adequada aos vários fins com que são utilizadas; e os nós que são efectuados durante o procedimento devem garantir o máximo de segurança. Quando se produz uma sutura deve-se ter em conta que estas devem ser esterilizadas, não alergénicas e devem provocar o mínimo de reacção à sua passagem durante o procedimento médico [4].

### *1.1.1 – História das Suturas*

A técnica de suturar nem sempre foi através de fios, como é conhecida actualmente. Os primeiros registos de suturas remontam a 20000 AC. Foram encontrados crânios da época Neolítica que provaram que durante este período era utilizada a trepanação, ou seja, eram feitos um ou mais buracos no crânio através de uma broca neurocirúrgica. O crescimento de osso pelo lado de dentro em relação ao buraco mostra que o paciente não só estava vivo durante a operação como sobreviveu por um período considerável depois de ser sujeito a esta técnica [1]. Foram descobertas outras técnicas de suturar de épocas mais recentes de há 4000 anos atrás. Registos arqueológicos do antigo Egipto mostram que o povo egípcio usava linho e tendões de

animais para fechar os ferimentos. Na Índia antiga, os físicos usavam as cabeças de escaravelhos ou formigas para agramar, literalmente, os bordos dos ferimentos. Estas criaturas encontravam-se vivas quando se procedia à técnica. A cabeça do animal era colocada de modo a apanhar os bordos da ferida e quando esta cerrava as suas pinças juntando os bordos da ferida, o corpo era separado da cabeça mantendo as pinças a fechar o ferimento [2]. Naquela altura também eram usados materiais como o linho, cabelo, algodão, seda e as vísceras de animais como instrumentos médicos. Estas técnicas de suturar eram muito rudimentares e os ferimentos suturados ficavam frequentemente infectados. Mais recentemente, no século XIX os cirurgiões preferiam cauterizar as feridas a suturá-las, uma vez que o risco de os pacientes morrerem de infecções provenientes das suturas eram menores. Ainda neste século, um físico Inglês chamado Joseph Lister estudou técnicas de desinfecção, tornando as suturas muito mais seguras. Nos seus estudos, Lister mergulhou suturas feitas de intestinos de animais (catgut) em fenol, tornando-as estéreis [2]. Entretanto começou a surgir um grande interesse nesta área e começaram a aparecer inúmeros estudos sobre vários materiais de modo a determinar o melhor material, que apresentasse uma flexibilidade adequada, que fosse forte e resistente o necessário para suportar a reacção natural do corpo a recuperar e que fosse possível de esterilizar para não criar reacções adversas nos tecidos vivos. No início do século XX o material “catgut” era usado como material de sutura absorvível enquanto a seda e o algodão eram usados como material de sutura não absorvível [3]. A criação de suturas de nylon e de poliéster forneceu o arranque ao desenvolvimento da tecnologia de suturas. Além dos materiais usados nos fios de suturas, procurou-se também desenvolver agulhas que provocassem o menor traumatismo possível. Para tal começou-se a pressionar as agulhas nos fios de suturas tornando o fio de sutura juntamente com a agulha num só instrumento médico. Antigamente as suturas absorvíveis eram todas feitas a partir de materiais naturais, preferencialmente o “catgut” mas a partir da segunda metade do século XX, os químicos desenvolveram novos materiais sintéticos passíveis de serem absorvidos pelo corpo. Os materiais usados nestas suturas eram de ácido poliglicólico e ácido poliláctico [3].

### *1.1.2 – Classificação das Suturas*

As suturas são divididas em dois grandes grupos: absorvíveis e não absorvíveis. Dentro de cada grupo, as suturas podem ainda ser classificadas como naturais ou sintéticas [4]. Relativamente à sua estrutura física podem ser classificadas como monofilamentos ou multifilamentos [3].

Tabela 1.1 - Exemplos de materiais utilizados nos vários tipos de suturas [4]

Absorvível		Não absorvíveis	
Natural	Sintética	Natural	Sintética
“catgut” simples “catgut” crômico	Poli (ácido glicólico) Poli (ácido láctico – co – ácido glicólico)	Seda Linho	Poliamida Poliéster Polipropileno

As suturas absorvíveis são aquelas que durante o processo de regeneração não só vão diminuindo gradualmente a sua resistência à tracção como vão sendo degradadas por degradação enzimática ou hidrólise [4,5]. Este tipo de suturas deve ser utilizado em tecido subcutâneo de modo a eliminar espaço morto na derme para que durante o tempo de regeneração a tensão minimize. As suturas não absorvíveis são um tipo de suturas que não são absorvíveis pelos tecidos. Quando utilizadas, as suturas não absorvíveis devem permanecer inalteradas durante o tempo em que estão aplicadas nos tecidos, ou seja, desde que são colocadas até ao momento em que os tecidos que foram unidos estejam suficientemente firmes de modo a que não seja necessário o apoio continuado do fio de sutura [5]. Este tipo de suturas são preferencialmente usadas em dermatologia e dermatocirurgia e devem ser manuseadas de modo a aproximar os tecidos sem os estrangular.



Figura 1.2: Exemplos de suturas

Existe uma grande variedade de suturas não só em relação aos vários materiais usados no seu fabrico como também quanto ao seu calibre. O calibre de uma sutura é definido através do diâmetro do fio [6]. A escolha de uma sutura depende da sua composição e do seu calibre. Como se pode observar pela Tabela 1.2 o calibre depende não só do tipo de sutura, depende da sutura ser absorvível não sintética ou uma sutura não absorvível e absorvível sintética [6].

Tabela 1.2 - Calibres das suturas absorvíveis não sintéticas e suturas não absorvíveis e absorvíveis sintéticas e os diâmetros correspondentes, segundo a Pharmacopeia dos Estados unidos e da Europa [5,7]

Calibre USP		Calibre Ph. Eur	
Suturas Absorvíveis Não Sintéticas	Suturas não Absorvíveis e Absorvíveis Sintéticas		Limites de diâmetros (mm)
	10-0	0.2	0,020-0,029
	9-0	0.3	0,030-0,039
	8-0	0.4	0,040-0,049
8-0	7-0	0.5	0,050-0,069
7-0	6-0	0.7	0,070-0,099
6-0	5-0	1	0,100-0,149
5-0	4-0	1.5	0,150-0,199
4-0	3-0	2	0,200-0,249
3-0	2-0	2.5	0,250-0,299
2-0	0	3	0,300-0,399
0	1	3.5	0,400-0,499
1	2	4	0,500-0,599
2	3	5	0,600-0,699
3	4	6	0,700-0,799

Segundo a Pharmacopeia Europeia a classificação das suturas é feita utilizando um método métrico onde 1 métrico corresponde a um diâmetro do fio de 0,1 mm.

Na tabela seguinte podemos constatar que quanto menor o calibre da sutura menor é a resistência do nó à tracção, ou seja, quanto menor o calibre mais facilmente a sutura parte uma vez que a força máxima a que resiste é menor.

Tabela 1.3 - Calibres de suturas e os respectivos valores de força nos nós das suturas para suturas Absorvíveis Sintéticas, segundo a Pharmacopeia dos Estados Unidos [7].

Calibre USP Suturas Absorvíveis Sintéticas	Resistência à tracção do nó da sutura (N)
12-0	-
11-0	-
10-0	0,24
9-0	0,49
8-0	0,69
7-0	1,37
6-0	2,45
5-0	6,67
4-0	9,32
3-0	17,4
2-0	26,3
0	38,2
1	49,8
2+	62,3

As suturas são também classificadas segundo a sua estrutura. Segundo esta classificação, as suturas podem ser monofilamentos, multifilamentos, revestidas ou não revestidas, tingidas ou não tingidas [3].

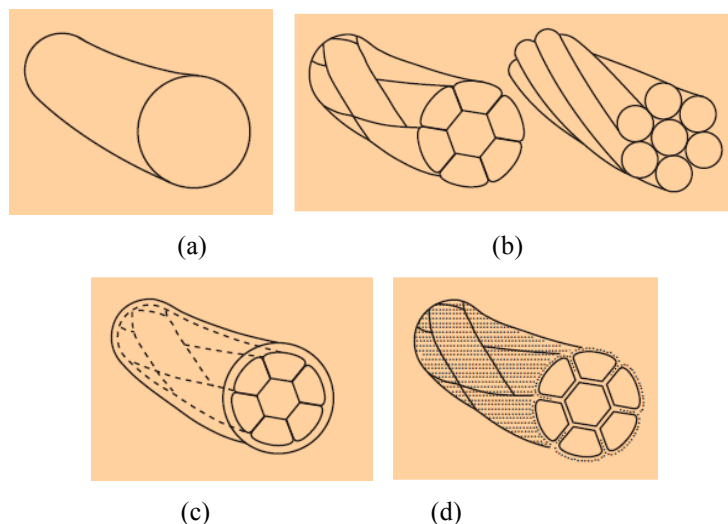


Figura 1.3 – Tipo de sutura segundo a sua estrutura. (a) monofilamento; (b) multifilamento; (c) Revestido ou pseudo- monofilamento; (d) revestido multifilamento [5]

As suturas monofilamento provaram produzir menos reacções inflamatórias do que as multifilamento [3]. O tipo de estrutura de cada uma explica o porquê de tal acontecer. As suturas multifilamentos possuem espaços entre os vários filamentos. Nestes pequenos espaços existe uma maior probabilidade das células em redor se infiltrarem e aderirem provocando uma reacção inflamatória superior àquela que uma sutura monofilamento provoca.

As suturas actuais são constituídas por duas partes essenciais: o fio de sutura e uma agulha de metal, tipicamente feita de aço inoxidável. Embora sejam ambas componentes essenciais no conjunto da sutura, a porção do fio possui um papel predominante uma vez que após ser inserido na ferida é o material que sustenta todo o tempo de recobro e sustenta todas as forças a que uma ferida é sujeita.

Quando ocorre um golpe há uma separação de tecidos, que dependendo da sua gravidade pode ou não precisar de auxílio para a cicatrização. A reacção inicial dos tecidos é um reflexo da quantidade de ferimentos infligidos pela passagem da agulha e da sutura [8]. O uso de suturas é um dos métodos mais tradicionais e mais comuns na cicatrização de feridas uma vez que forçam a aproximação dos tecidos danificados. A cicatrização ocorre em quatro fases principais: hemostasia, inflamatória, proliferativa e maturação. Na segunda fase não há ganho de força e a ferida depende da sutura para manter os tecidos unidos enquanto ocorre a resposta inflamatória aguda. Na terceira fase ocorre a proliferação dos fibroblastos originando o processo



de fibroplasia. A formação de colagénio novo nos tecidos provoca um aumento de força. A fase da maturação é caracterizada pela reorganização do tecido conjuntivo [3].

Nas fases iniciais não há um ganho de força muito elevado. Ao fim do primeiro mês os tecidos recuperam aproximadamente cinquenta por cento da força. Quando há danificação de um tecido, ele recupera sensivelmente oitenta por cento da força inicial [3].

As agulhas utilizadas actualmente nas suturas são constituídas por três secções: a ponta, o corpo e uma outra ponta onde o fio está preso. A ponta é o local mais aguçado da agulha uma vez que é a zona que corta os tecidos de modo a passar a sutura, o corpo é a secção, que pode variar na forma, onde o cirurgião agarra para manusear a sutura e a ultima secção é a secção mais fina de todas. As agulhas variam no tamanho, forma e secção de corte. Quanto ao tamanho, as agulhas devem ser o mais fino possível de modo a diminuir ao máximo o traumatismo causado durante o procedimento de suturar. O comprimento das agulhas pode diferir de sutura para sutura, dependendo do calibre desta e deste modo dependendo do tipo de ferida que se pretende suturar. Relativamente à forma, elas podem ser curvas ou rectas, sendo as curvas mais utilizadas na derme. A secção de corte divide-se em dois tipos: corte e não corte [4]. As agulhas de corte podem ter um bordo afiado na curva interna da agulha que é dirigido ao bordo da ferida ou um bordo afiado na parte externa da agulha que é direccionado para longe do bordo da ferida, que se denomina de corte reverso. Ambos os tipos de agulhas têm um corpo triangular.

Existem diversas técnicas de suturar e a sua escolha depende não só do cirurgião que realizará o procedimento como depende também do tipo e local onde é necessário suturar. Uma técnica de sutura para ser eficiente deve eliminar espaço morto entre os tecidos subcutâneos, deve minimizar a tensão provocada pela separação de tecidos quando estão danificados e deve juntar os tecidos de modo a que estes se mantenham unidos sem serem estrangulados.

Entre as várias técnicas de suturar encontramos a sutura simples, sutura simples interrompida, sutura continua, sutura intradérmica, sutura subcutânea entre outras.

Uma sutura ideal deve permitir realizar nós seguros, isto é, os nós devem manter-se fixos evitando que os mesmos se desfaçam ou quebrem. Actualmente existem vários tipos de nós dependendo da técnica que se utiliza para suturar, que por sua vez depende da zona que é necessário suturar. Existem três tipos de nós principais: quadrado, “granny” e o nó de cirurgião [9].

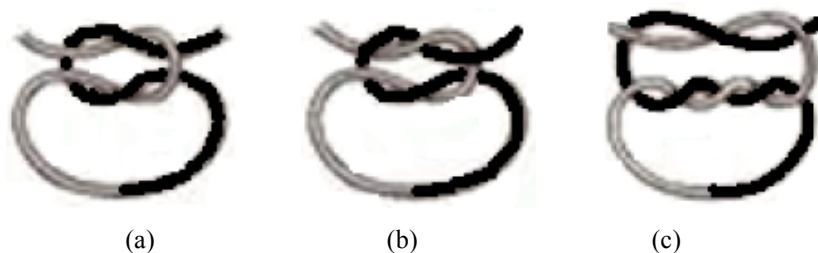


Figura 1.4 – Três nós principais de sutura (a) Quadrado; (b) “granny”; (c) Nó de cirurgião [9]

Os nós são constituídos por três componentes essenciais. O primeiro componente é o laço que aproxima os tecidos danificados e fornece a tensão necessária para manter os tecidos unidos. De seguida existe o nó propriamente dito que é feito de laçadas, cujo número depende do tipo de sutura que se pretende realizar e do tipo de tecido que se tenciona suturar. O último componente são as pontas do fio de sutura que permanecem soltas após o procedimento ter terminado. Estas pontas devem garantir que permanecem estáveis de modo a que não haja desenlace do nó tornando a sutura instável [10].

## 1.2 Electrofiação

O *electrospinning* ou electrofiação é uma técnica de produção de fibras ultrafinas muito usada actualmente. O termo *electrospinning* deriva das suas características enquanto técnica: “electrostatic spinning” que significa fiação electrostática [11].

### 1.2.1 História da Electrofiação

Esta técnica de produção de fibras ultrafinas existe há muitos anos. O seu início ocorreu em 1897 por Rayleigh mas foi patenteada apenas em 1934 por Anton Formahals. Embora tenha surgido há bastante tempo, foi apenas a partir dos anos oitenta do século XX que esta técnica ganhou uma maior atenção. O seu grande desenvolvimento deveu-se essencialmente ao facto de ser uma técnica simples e económica e com uma grande versatilidade relativamente às fibras produzidas [11].

A electrofiação utiliza forças eléctricas para produzir fibras cujos diâmetros podem ir desde algumas dezenas de nanómetros a alguns micrómetros [11].

Esta técnica tem sido utilizada nos últimos anos em diversas áreas tais como a indústria têxtil, aplicações biomédicas e farmacêuticas, biotecnologia, Engenharia Ambiental, Engenharia dos Tecidos entre muitas outras [11].

A Engenharia dos Tecidos é um campo multidisciplinar que combina métodos da engenharia com princípios da ciência e da vida. Esta área da engenharia procura produzir

substitutos que sejam capazes de restaurar, manter e melhorar a função de tecidos e órgãos. Entre as inúmeras aplicações que a Engenharia dos Tecidos nos oferece através da aplicação da técnica de electrofiação deparamo-nos com matrizes para aplicações de filtração, libertação de medicamentos e regeneração de tecidos. Embora esteja numa fase inicial têm sido desenvolvidas membranas de nanofibras poliméricas para revestir as feridas. As membranas de nanofibras apresentam a maior parte das propriedades necessárias para a terapêutica de ferimentos. Para esta terapêutica ser o mais próximo do ideal, deve apresentar características tais como capacidade de absorção de fluidos, eficiência como barreira bacterial, capacidade de trocas gasosas adequada, deve aderir ao tecido saudável e evitar ferir o tecido danificado, deve ser indolor para o paciente, fácil de remover e de baixo custo [11].

### 1.2.2 Processo de Electrofiação

São três os componentes principais necessários para produzir fibras ultrafinas através da técnica de electrofiação: uma fonte de alta tensão, um colector ligado à terra e uma seringa contendo a solução que se pretende fiar [12]. Na figura 1.5 pode-se observar um esquema de uma montagem do processo de electrofiação.

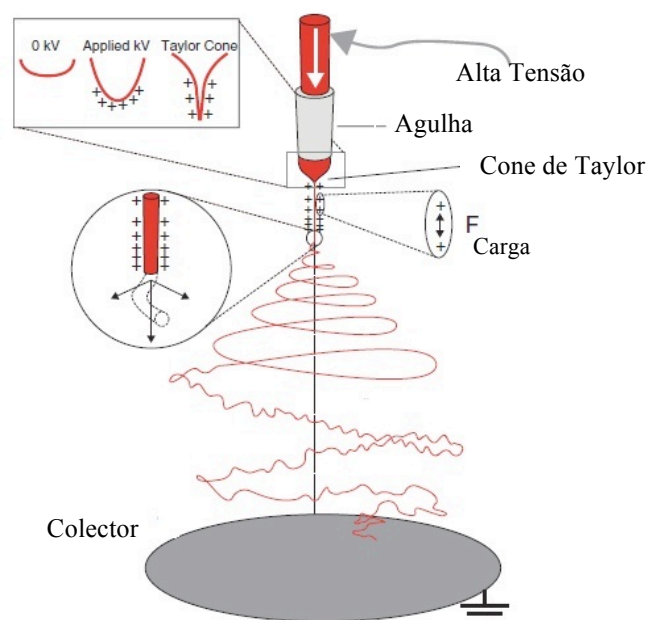


Figura 1.5 – Montagem esquemática do *electrospinning*[17]

O tipo de montagem da técnica de electrofiação pode ser horizontal ou vertical.

A bomba de ejeção não só ajuda a impulsionar a solução que contém o polímero na direcção do colector como também é a responsável por controlar o caudal da solução, isto é,

controla e mantém estável durante todo o processo a quantidade de solução que é ejectada por unidade de tempo.

É aplicada uma tensão na agulha, que serve como um eléctrodo. Entretanto, à medida que a bomba de ejeção força a saída da solução, forma-se uma gota na ponta da agulha. Quando a tensão é aplicada, esta gota fica altamente carregada e como resultado vai experimentar dois tipos de forças electrostáticas: a repulsão electrostática entre as cargas da superfície e a força de Coulomb exercida pelo campo eléctrico externo. O aparecimento destas forças obriga a gota a deformar-se de modo a atingir uma forma cónica conhecida por cone de Taylor. Quando as forças electrostáticas associadas às cargas de superfície vencem a tensão superficial da solução ocorre a ejeção desta sob a forma de um jacto. Este jacto resulta num fio ultrafino e longo após sofrer um processo de alongamento e de “chicotada”. É durante esta fase que corre a evaporação do solvente. À medida que o fio atravessa a distância que separa a seringa do colector, o solvente utilizado para dissolver a mistura evapora dando lugar a um fio polimérico solidificado. O fio resultante é atraído pelo colector uma vez que este está ligado à terra. À medida que vai sendo expelido da seringa, a solução é depositada aleatoriamente no colector sob a forma de fibras ultrafinas [12].

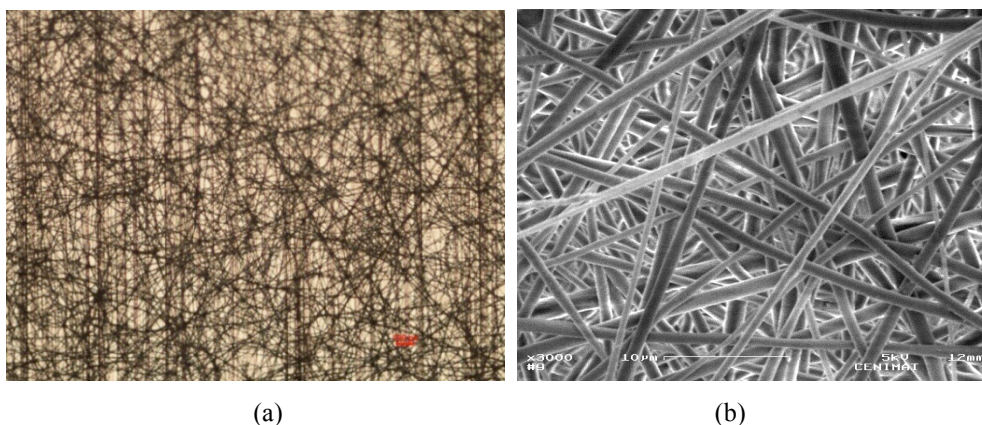


Figura 1.6 – Deposição de fibras de PCL e Acetato de Celulose observadas no (a) Microscópio Óptico (Objectiva 10x); (b) SEM

O colector pode variar em termos de composição e geometria, escolhendo-se o que melhor se adequa ao objectivo da produção de fibras. Existem inúmeros tipos de colectores entre eles o prato de alumínio, barras paralelas, cilindro rotatório, água, etc [11]. Determinados colectores permitem obter fibras alinhadas. Quando não são alinhadas, as fibras são depositadas aleatoriamente devido à instabilidade do jacto que se encontra carregado [11].

Esta técnica de produzir fibras ultrafinas depende de vários parâmetros que podem ser controlados. Os parâmetros dividem-se em três categorias: parâmetros da solução, parâmetros do processo e parâmetros ambientais.

A viscosidade, condutividade, tensão superficial, momento dipolar e a constante dieléctrica são propriedades intrínsecas da solução. São propriedades que se devem ter em consideração quando se escolhem os componentes da solução uma vez que quando não estão em conformidade não é possível produzir fibras ultrafinas regulares e de boa qualidade. A viscosidade, a condutividade e tensão superficial são propriedades muito importantes a ter em conta uma vez que determinam o tamanho e a morfologia das fibras produzidas por electrofiação [13].

Estudos sobre a importância dos vários parâmetros no processo de electrofiação mostraram que, com baixas concentrações de polímero, a gota na ponta da agulha alterava a sua forma de modo que, ao invés de haver uma boa fiação da solução, ocorria simplesmente pulverização, isto é, libertação simultânea de pequenas gotas [13]. Por vezes o aumento da concentração de polímero torna as fibras mais uniformes e com uma forma cilíndrica [14].

Nas situações em que a concentração é muito elevada, a gota formada na ponta da agulha seca antes de se formar o jacto impedindo a produção de fibras e, como consequência, todo o processo de electrofiação é anulado.

Na sequência de vários estudos concluiu-se que o diâmetro médio das fibras produzidas pelo processo de electrofiação aumenta com o aumento da concentração de polímero da solução [13].

Foi observado que um aumento no diâmetro das fibras está directamente relacionado com a diminuição da área da superfície de deposição das fibras [13].

Quanto à condutividade de uma solução, verificou-se que o aumento da condutividade da solução ou da densidade de carga pode ser utilizada para produzir fibras com o menor número de contas possível [13].

Existe uma relação de proporcionalidade inversa entre a condutividade e o diâmetro das fibras produzidas pelo processo de electrofiação, isto é, um aumento na condutividade provoca uma diminuição no diâmetro das fibras, enquanto uma baixa condutividade da solução resulta num menor alongamento do jacto e fibras de maior diâmetro [11].

Os parâmetros de processo englobam a tensão aplicada, o caudal, o tipo de colector e a distância entre o colector e a agulha.

Como foi dito anteriormente, o processo de electrofiação apenas se inicia quando é aplicada uma tensão adequada. Em muitos casos, quando a tensão aplicada se torna muito elevada há uma grande probabilidade de se formarem gotas e contas na deposição [11]. Uma tensão muito alta pode provocar um enorme alongamento da solução devido às forças de Coulomb presentes no jacto bem como um campo eléctrico mais forte. Todos estes factores podem provocar uma diminuição no diâmetro das fibras e uma evaporação precoce do solvente [11].

Em relação ao caudal, deve haver um intervalo de valores ideais para produzir as fibras desejáveis. Um caudal muito elevado inibe uma secagem adequada do jacto resultando no aparecimento de contas e gotas juntamente com as fibras produzidas [11]. Quando o caudal é baixo podem ocorrer interrupções no jacto, devido à indisponibilidade da solução [15].

Os parâmetros ambientais incluem a temperatura e a humidade do ambiente em que são produzidas as fibras. Existe uma relação inversa entre a viscosidade e a temperatura: o aumento de temperatura diminui a viscosidade [11]. Os solventes têm propriedades intrínsecas que contribuem para as características essenciais numa solução e por vezes, são as misturas que se criam que determinam as características determinantes da solução. Os solventes usados nas soluções que são sujeitas à electrofiação devem possuir algumas propriedades tais como volatilidade, pressão de vapor e ponto de ebulição adequados. A escolha dos solventes para as soluções na electrofiação é muito importante pois estes têm um papel crucial em todo o processo. Inicialmente, os solventes devem permitir uma dissolução completa dos polímeros e de seguida devem transportar as moléculas dos polímeros através do jacto até atingirem o colector [11].

### *1.2.3 Soluções utilizadas na electrofiação*

As soluções utilizadas na electrofiação são constituídas essencialmente por polímeros dissolvidos em solventes escolhidos devido às suas características e as suas relações com os polímeros optados. São inúmeros os polímeros utilizados na electrofiação. Os polímeros são macromoléculas compostas por unidades estruturais que se repetem, designadas de monómeros. Uma macromolécula pode conter até milhares destas unidades estruturais repetidas [16].

Os polímeros podem ser de natureza natural ou sintética. As soluções utilizadas na técnica de electrofiação podem ser constituídas por polímeros naturais, sintéticos ou uma mistura dos dois tipos, incluindo proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos. Os polímeros naturais provêm de fontes renováveis como as plantas, animais e microorganismos. Este tipo de polímero foi o primeiro a ser utilizado na Engenharia dos Tecidos, nomeadamente em matrizes destinadas ao estudo de regeneração de tecidos. Os polímeros naturais são utilizados nesta área da engenharia pois apresentam propriedades tais como comportamento pseudo-plástico, hidrofiliidade, biodegradabilidade entre muitas outras. Um dos factores muito importantes que leva à sua grande procura e pesquisa é o facto de estes polímeros apresentarem propriedades semelhantes à matriz extracelular encontrada nos organismos vivos [17].

O colagénio, o quitosano, a gelatina, o acetato de celulose, a proteína da seda e o ácido desoxirribonucleico (ADN) são exemplos de polímeros naturais [11].

Os polímeros naturais, quando aplicados na área da biomedicina, são preferidos aos polímeros sintéticos pois não só exibem uma melhor biocompatibilidade e baixa imunogenicidade como possuem uma capacidade própria para ligar células desde que possuam sequências de aminoácidos específicas. No entanto, os polímeros sintéticos também apresentam algumas vantagens em relação aos polímeros naturais. Os polímeros sintéticos podem ser adaptados de maneira a proporcionar determinadas propriedades mecânicas tais como a viscoelasticidade, a resistência à tração e uma taxa de degradação pretendida [11].

Os polímeros sintéticos mais usados em aplicações biomédicas são os poliésteres biodegradáveis hidrofóbicos tais como o ácido poliglicólico (PGA), ácido polilático (PLA) e a poly ( $\epsilon$  – caprolactona) (PCL) [11]. O PCL é um composto muito utilizado em aplicações biomédicas uma vez que é degradado via hidrólise das ligações éster em condições fisiológicas. Em comparação com outros polímeros sintéticos biodegradáveis, este apresenta uma taxa de degradação inferior, o que mostra ser um factor importante quando usado em implantes como libertação controlada de medicamento no organismo, ou mesmo como sutura [18]. É sintetizado através da polimerização da abertura do anel da  $\epsilon$  – caprolactona [17].

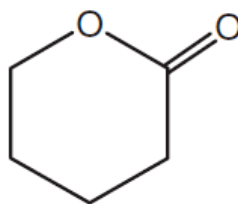


Figura 1.7 – Estrutura da  $\epsilon$  – caprolactona [18]

Durante este trabalho experimental foram utilizadas soluções constituídas por acetato de celulose e PCL. A celulose é um dos biopolímeros mais comuns no nosso planeta. O acetato de celulose foi preparado inicialmente por Paul Schutzenberger em 1865. Este componente, em termos químicos, é um éster acetato da celulose, que por sua vez é o componente principal das paredes das células das plantas, constituindo actualmente a fonte de polímero renovável mais abundante. Existe maioritariamente nas florestas sob a forma de material lignocelulósico, sendo a madeira a principal fonte [17].

A escolha do acetato de celulose apresenta várias vantagens em comparação com outros polímeros: é solúvel em vários solventes comuns tais como a acetona e a *N, N* – dimetilacetamida, as fibras produzidas mostram ser suaves ao toque, a sua produção é amiga do ambiente e provou ser hipoalergénico [15].

No trabalho experimental utilizaram-se como solventes o clorofórmio, *N, N* – dimetilacetamida e acetona.



O clorofórmio é o nome comum para triclorometano. É um hidrocarboneto halogenado com a fórmula  $\text{CHCl}_3$ , não solúvel em água mas no entanto facilmente dissolvido em álcool, éter, acetona e outros solventes orgânicos. Foi descoberto por Eugene Soubeiran, em França e por Justus von Liebig, na Alemanha, ambos por volta de 1831. Mais tarde foi proposto como anestésico por Sir J. Simpson, professor inglês da Universidade de Edimburgo. Provou-se que este componente provoca danos em vários órgãos humanos particularmente no fígado. Por esta razão, anos mais tarde foi substituído por outros compostos mais seguros [20].

A *N, N* – dimetilacetamida é um composto orgânico da classe das amidas, com a fórmula  $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$  e apresenta-se sob a forma de um líquido incolor. É um solvente muito utilizado em química orgânica, na produção de produtos fotográficos, cosméticos, farmacêuticos entre muitos outros. É usado também na Engenharia dos Tecidos quando aplicado na produção de nanofibras por electrofiação para regular a taxa de evaporação do solvente, como no presente trabalho. Este composto pode ser obtido através da reacção de ácido acético com a dimetilamina [21].

A acetona, também conhecida como dimetilcetona ou propanona, é um composto orgânico com a fórmula química  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$  e apresenta-se sob a forma de um líquido incolor mas com um odor e sabor muito característico e fácil de distinguir. É um composto utilizado na extracção de óleos, na indústria farmacêutica, na Engenharia de Tecidos, como solvente de polímeros, entre muitas outras aplicações. Uma das aplicações muito conhecida da acetona pertence à categoria dos cosméticos, uma vez que é utilizado na remoção de verniz das unhas.

Tabela 1.4 - Propriedades dos solventes Acetona, *N,N* – dimetilacetamida e clorofórmio [22].

Solvente	Acetona	<i>N,N</i> - Dimetilacetamida	Clorofórmio
Fórmula Molecular	$\text{CH}_3\text{COCH}_3$	$\text{CH}_3\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CHCl}_3$
Densidade	0,791 g/cm <sup>3</sup> (25°C)	0,937 g/cm <sup>3</sup> (25°C)	1,492 g/cm <sup>3</sup> (25°C)
Ponto de Fusão	-94°C	-20°C	-63°C
Ponto de Ebulição	56°C	164,5 - 166°C	60,5- 61,5°C

Na Tabela 1.4 encontramos algumas propriedades importantes dos solventes que foram utilizados durante o trabalho.

De seguida podemos presenciar todos os passos que foram realizados durante a produção de um novo tipo de sutura através da técnica de electrofiação. Após serem produzidos, os fios foram submetidos a uma série de testes de modo a caracterizar o novo fio de sutura. Entre eles foram efectuados testes de tracção, de modo a determinar a força máxima, isto é a força necessária para quebrar o fio e testes *in vivo*, de modo a avaliar a resposta imunológica dos tecidos quando o fio de sutura é aplicado.



# Capítulo 2

## Materiais e Métodos

### 2.1 Materiais

Para a preparação das soluções foram utilizados os seguintes produtos:

- Poli ( $\epsilon$  – caprolactona) [PCL], adquirido à Sigma – Aldrich, com massa molecular média entre 70,000 e 90,000.
- Acetato de Celulose, adquirido à Sigma – Aldrich com massa molecular média aproximadamente 61 000.
- Triacetato de Celulose, adquirido à Sigma – Aldrich com massa molecular média aproximadamente 30,000.
- Clorofórmio, adquirido à Group Carlo ERBA Reagents.
- Acetona, adquirido à Group Carlo ERBA Reagents.
- *N,N* – Dimetilacetamida, adquirido à Sigma – Aldrich.

Depois de preparadas, as soluções foram sujeitas ao processo de electrofiação. Durante este procedimento foram utilizados os seguintes materiais:

- Bomba de infusão, Chemyx – Syring Infusion Pump.
- Fonte de alta tensão, construída no laboratório.
- Seringas B. Braun (5 ml), e Terumo (10 ml).
- Agulhas de calibre 22.
- Colector metálico.
- Papel de alumínio.

Para caracterizar e medir os parâmetros das fibras produzidas, utilizaram-se os seguintes dispositivos:

- Microscópio óptico, Nikon Eclipse LV100
- Microscópio Electrónico de Varrimento (*“Scanning Electron Microscopy”* – SEM), Zeiss, modelo DSM 962.
- Difracção por raios –x (DRX), modelo X’Pert PRO PANalytical.
- Craveira digital, modelo Absolute Digimatic da Mitutoyo.
- Régua comum

Nos testes *in vivo* foram utilizados:

- Ratos de laboratório, da estirpe Wistar.
- Anestesia, constituída por uma mistura de Ketalar e Diazepam na proporção 2:1.
- Sutura Dexon “S” *Beige Braided Polyglycolic Acid* caliber 5-0.
- Sutura Vicryl *Polyglactin 910* [4-0].

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Processo de electrofiação

Para iniciar o trabalho experimental começou-se por produzir soluções com diferentes misturas e diferentes concentrações, de modo a procurar a solução que produzisse melhores fibras através do processo de electrofiação.

Das soluções cujos solventes foram uma mistura de dois, o clorofórmio foi o elemento comum a todas elas.

A acetona foi um dos solventes escolhidos por dissolver o acetato de celulose [23]. Para além do PCL decidiu-se adicionar acetato de celulose com o intuito de diminuir a elasticidade das fibras produzidas.

Nas tabelas seguintes estão sumariadas as diferentes constituições das soluções utilizadas no trabalho. Os valores das percentagens dos constituintes das soluções correspondem a massa/massa.

Tabela 2.1 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e acetona.

Denominação	Clorofórmio (% p/p)	Acetona (% p/p)	PCL (% p/p)	Acetato de Celulose (% p/p)
S1	50	50	10	0,4
S2			10	-
S3			15	0,6
S4	75	25	10	0,4

As soluções cujo solvente era uma mistura de clorofórmio e acetona não produziram fibras regulares e de boa qualidade, apresentando dificuldades durante o processo de electrofiação como a formação de uma gota na ponta da agulha. Procurou-se outro solvente que dissolvesse o acetato de celulose. Escolheu-se a N,N – dimetilacetamida.

Tabela 2.2 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e N,N – dimetilacetamida.

Denominação	Clorofórmio (% p/p)	N, N Dimetilacetamida (% p/p)	PCL (% p/p)	Acetato de Celulose (% p/p)
S5	50	50	10	0,4
S6	60	40	15	0,6
S7			20	0,8
S8			15	-
S9			15	0,3
S10			15	0,9
S11			15	1,2
S12	70	30	15	0,6

Durante os testes de tracção das amostras da solução S8 ocorreu um fenómeno estranho: as amostras quebraram parcialmente separando-se em duas camadas. Para compreender se este fenómeno estava directamente relacionado com a solução S8, devido a algum factor durante todo o procedimento até obter as amostras ou se, estava relacionado com a mistura de clorofórmio e dimetilacetamida, repetiu-se a solução utilizando o mesmo procedimento. Foram feitas duas soluções utilizando os mesmos componentes, que se denominaram S8-2 e S8-3. A solução S8-3 apenas diferiu no tempo de deposição que foi reduzido para metade, sendo portanto de 10 horas.

Posteriormente experimentaram-se outras soluções constituídas somente por clorofórmio como solvente.

Tabela 2.3 - Composição das soluções em que o solvente usado foi o clorofórmio.

Denominação	Clorofórmio (% p/p)	PCL (% p/p)	Triacetato de Celulose (% p/p)
S13	100	10	0,4
S14		10	-
S15		15	-

Na solução S13 adicionou-se triacetato de celulose em substituição do acetato de celulose. Na bibliografia pesquisada encontrou-se que o clorofórmio era um bom solvente do triacetato de celulose uma vez que o dissolia.

Experimentou-se também dissolver PCL em N, N – dimetilacetamida e estudar os seus parâmetros.

Tabela 2.4 - Composição das soluções em que o solvente usado foi a N,N – dimetilacetamida.

Denominação	N, N Dimetilacetamida (% p/p)	PCL (% p/p)
S16	100	15
S17		18

Depois de prontas, as soluções foram submetidas ao processo de electrofiação onde se procurou determinar os melhores parâmetros de produção de fibras de cada uma das soluções. Durante o estudo foram alterados a distância entre a solução e o colector, a tensão aplicada e o caudal, formando vários conjuntos de parâmetros.

Depois de produzidas, as deposições foram observadas no microscópio óptico. Ao utilizar o microscópio óptico procurou-se visualizar toda a deposição para verificar as características principais e a qualidade das fibras produzidas. Utilizaram-se as objectivas de 10x, 50x e nalguns casos a objectiva de 100x. Em muitas das deposições foram encontradas contas e gotas tornando as fibras irregulares. Além de muitas deposições apresentarem problemas físicos relativamente às fibras verificou-se também que durante o processo de electrofiação, as soluções em que o solvente foi uma mistura de clorofórmio e acetona formavam gotas na ponta da agulha resultando em fibras irregulares.

Depois de determinadas as soluções viáveis para prosseguir o estudo, foram feitas deposições de vinte horas de cada uma das soluções, excepto a solução S8-3 da qual se fez uma deposição de dez horas.

As soluções S6, S8, S9 e S10 foram depositadas utilizando os seguintes parâmetros: 25 cm de distância; 0,5 ml por hora de taxa de fluxo; e aplicada uma tensão de 15 kV. Na solução S11, uma vez que a concentração de acetato de celulose era superior às restantes soluções, tornando esta solução mais viscosa, a tensão aplicada para proceder à deposição aumentou para os 18 kV, mantendo fixos os restantes parâmetros (25 cm e 0,5 ml por hora).

### **2.2.2 Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM)**

Recorreu-se, de seguida, ao microscópio electrónico de varrimento para observar as fibras obtidas em detalhe.

As amostras das várias deposições foram dispostas num disco próprio para ser utilizado no SEM. Neste disco foram colocados dois pedaços de fita de carbono de modo a colar as amostras a serem observadas. Depois de preparadas e antes de serem analisadas, as amostras foram revestidas por partículas de ouro. Posteriormente o disco foi colocado no SEM e foram observadas as várias amostras em estudo.

### 2.2.3 Ensaios Mecânicos

Depois de efectuadas as deposições, cortaram-se amostras com as dimensões 3 cm de comprimento por 1 cm de largura. Mediram-se também as espessuras das amostras em três pontos diferentes.

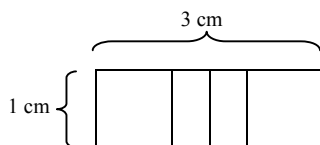


Figura 2.1 – Esquema representativo dos pontos onde foram medidos as espessuras das amostras.

Foram escolhidas várias amostras de cada uma das deposições. Cada uma das amostras foi submetida a um teste de tracção até à ruptura.

Durante os testes de tracção programou-se o aparelho com uma extensão máxima de 99,99 mm (valor máximo permitido pelo aparelho) e, como velocidade de tracção, 5 mm por minuto.

Inicialmente foram submetidas as cinco soluções (S6, S8, S9, S10 e S11) a testes de tracção, até à ruptura. Com estes testes de tracção pretendeu-se determinar a extensão máxima de ruptura, a tensão máxima que os vários materiais suportam até atingirem os pontos de ruptura e os módulos de Young para as várias misturas de soluções. O módulo de Young caracteriza a rigidez elástica de um material. Quanto maior for o módulo de Young de um material maior é a resistência do material à deformação plástica.

Um material quando sujeito a um teste de tracção sofre uma deformação contínua à medida que a tensão aumenta. Contudo, as amostras sofrem dois tipos de deformação: elástica e plástica. A deformação elástica é caracterizada por ser uma deformação em que, quando a carga é removida, a amostra volta à sua forma inicial. Na deformação plástica, as amostras deformam permanentemente, ou seja, quando é retirada a carga as amostras não recuperam a sua forma original. Através dos gráficos tensão-deformação é possível determinar as zonas correspondentes à deformação elástica e plástica. Ao separar estas duas deformações existe um patamar, no qual a tensão se mantém aproximadamente constante, conhecido como a tensão de cedência. A partir da tensão de cedência as amostras passam a sofrer deformação plástica.

Após os testes de tracção à ruptura, analisaram-se os gráficos correspondentes a cada amostra. Posteriormente utilizaram-se outras amostras da deposição de S6 e submeteram-se a testes de recuperação, com o objectivo de avaliar a histerese mecânica. Estes testes de recuperação são caracterizados por serem testes onde, após se submeterem as amostras à tracção, se retirava a tensão de tracção. O aparelho era programado para operar em modo compressão. Primeiramente as amostras foram traccionadas até atingir um alongamento ( $\Delta l$ ) de

50 mm. Este valor foi seleccionado de forma a evitar a ruptura da amostra. De seguida, e sem retirar as amostras das garras da máquina, programou-se o aparelho para realizar a compressão às mesmas amostras. Definiu-se a velocidade de deslocação das garras do aparelho idêntica à definida nos testes de tracção, 5 mm por minuto.

Não foi realizado o estudo acerca dos parâmetros ideais de produção de fibras através da técnica de electrofição para a solução S15 que é constituída por PCL (15%) em clorofórmio (100%) pois esta solução já tinha sido estudada no laboratório e os parâmetros com que se produziram as nanofibras de PCL foram: 25 cm; 0,5 ml por hora e 13 kV. Deste modo, foi feita uma deposição de 20h da solução S14, para ser utilizada posteriormente em testes de tracção e re-tracção.

Posteriormente, três amostras da deposição da solução S6 e três amostras da solução S15, isto é, foram sujeitas a ciclos de histerese. Isto é, foram sujeitas a tracção, compressão, novamente tracção, seguida de outra compressão, terminando com uma tracção até à ruptura.

Para estes testes foram utilizados os valores médios determinados com os testes de tracção e compressão realizados inicialmente à solução S6.

O processo utilizado nestes testes foi o seguinte:

1. Primeiramente traccionaram-se as amostras até atingir um alongamento de 37,9 mm (80% do valor médio do alongamento à ruptura)
2. Com a amostra totalmente distendida, procedeu-se à compressão, impondo às amostras um retorno de 12 mm ( $\Delta l = -12\text{mm}$ ).
3. As amostras foram novamente traccionadas de forma a atingirem uma deformação equivalente à definida em 1. Assim o aparelho foi programado para traccionar a amostra até um alongamento de 12mm.
4. Após a segunda tracção executou-se novamente uma compressão ( $\Delta l = -12\text{mm}$ ).
5. Traccionou-se novamente a amostra, definindo o valor de extensão máxima autorizado pelo aparelho, de modo a que as amostras atingissem a ruptura.

Para a solução S15 foi utilizado o mesmo processo alterando os valores de extensão e compressão. As amostras desta solução são muito deformáveis devido a serem compostas unicamente por PCL. Por este motivo não houve limite durante as tracções, efectuando-se a tracção máxima possível pelo aparelho de tracção. No fim das tracções, as amostras foram sujeitas à compressão com  $\Delta l = -25\text{ mm}$ . Este valor garantiu que todas as amostras passavam pela força nula. As amostras da solução S15 foram igualmente sujeitas a três tracções intercaladas com duas compressões.

## 2.2.4 Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM) - 2

Depois de concluídos os testes de tracção procurou-se a causa da separação em camadas observando uma amostra de S8-2 que foi previamente traccionada e separada em quatro fragmentos identificados por A1, A2, B1 e B2.

O modo de preparação destas amostras foi idêntico ao realizado nas amostras das restantes soluções que foram anteriormente observadas.

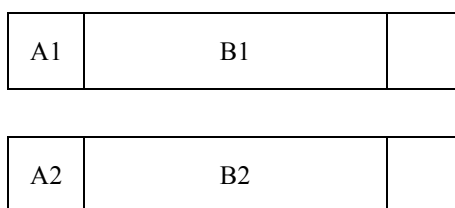


Figura 2.2 – Esquema representativo dos fragmentos da amostra de S8, que quebrou em duas camadas

A legenda dos fragmentos é a seguinte:

- A1 – camada um, não traccionada (presa entre as garras do aparelho);
- A2 – camada dois, não traccionada (presa entre as garras do aparelho);
- B1 – camada um, traccionada;
- B2 – camada dois, traccionada.

A camada um corresponde à camada de cima, ou seja, à última camada depositada e a camada dois corresponde à camada junto do papel de alumínio que foi a primeira a ser depositada.

## 2.2.5 Difracção de Raios - X

Como já foi referido, durante os testes de tracção à ruptura ocorreu um fenómeno invulgar às amostras sujeitas a testes de tracção, caracterizado pela separação das mesmas em duas camadas.

Para ajudar a perceber o porquê deste fenómeno submeteram-se diversas amostras à difracção por raios – x para analisar o seu grau de cristalinidade. Uma das amostras sujeita à difracção por raios – x foi aquela que foi traccionada e separada em quatro fragmentos. Estes fragmentos foram analisados individualmente.



Para além desta amostra foram também sujeitas amostras cedidas por dois colegas, Susana Gomes e João Martins, produzidas a partir de soluções constituídas por PCL dissolvido em ácido acético e PCL dissolvido em clorofórmio, respectivamente.

Depois de cortados, colocaram-se os pedaços das diversas soluções, um de cada vez, num disco que foi de seguida colocado no aparelho de difracção por raios – x.

### 2.2.6 Produção de fios

Nesta fase foram utilizados dois instrumentos de corte, inicialmente modificados de modo a produzir fios com diferentes larguras.

Num dos instrumentos, colocaram-se duas lâminas, encostadas uma à outra, num x-ato comum de modo a que a distância entre as duas lâminas fosse a menor possível.

No outro instrumento de corte, colocaram-se igualmente duas lâminas juntas. A diferença residiu no tipo de lâmina utilizado. No primeiro instrumento foram utilizadas lâminas de x-ato comuns enquanto no segundo instrumento de corte utilizaram-se lâminas circulares. Para além das lâminas circulares, colocaram-se conjuntamente discos de cartolina de modo a aumentar o espaço entre as duas lâminas. Utilizaram-se uma, duas e três cartolinas no instrumento de corte.

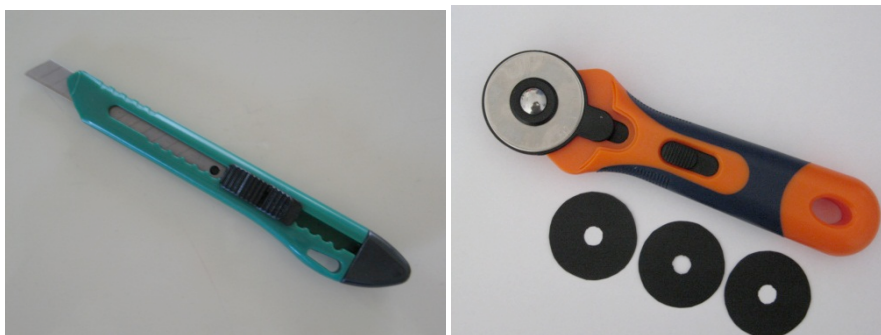


Figura 2.3 – Instrumentos de corte utilizados

Cortaram-se vários fios de diferentes larguras das deposições de S6 e S15. Para medir os comprimentos das várias amostras utilizou-se uma régua comum e para determinar as espessuras utilizou-se a craveira digital. Para calcular a largura dos fios recorreu-se ao microscópio óptico. No microscópio óptico, analisaram-se os fios e retiraram-se imagens dos fios, com a respectiva escala. Para determinar as larguras iniciais retiraram-se imagens em três pontos diferentes dos fios. De seguida e recorrendo ao programa ImageJ determinaram-se as larguras dos fios. De cada imagem foram determinados três valores de largura. Registaram-se os seus valores de comprimento e espessura finais utilizando um procedimento idêntico ao inicial.

As larguras finais foram igualmente determinadas através do microscópio óptico com o auxílio do programa ImageJ. No entanto depois de serem alongados, foram retiradas quatro imagens de diferentes pontos ao invés das três iniciais. No programa ImageJ determinaram-se três valores de largura para cada imagem.

Para determinar qual o calibre dos fios produzidos, calcularam-se as áreas de secção. Contudo, uma vez que os fios não possuem uma secção circular mas uma secção elíptica, foram calculadas as áreas de secção utilizando a fórmula da área de uma elipse:

$$A = \pi ab$$

Na fórmula,  $a$  corresponde a metade do eixo maior da elipse e  $b$  corresponde a metade do eixo menor.

Para comparar os valores de área, calcularam-se as áreas limite dos vários calibres de suturas, representadas na Tabela 1.2. De seguida compararam-se as duas áreas, de modo a determinar os calibres dos fios obtidos.

### **2.2.7 Testes *in vivo***

Para os testes *in vivo* foram utilizados dois ratos de laboratório da estirpe Wistar, ambos do sexo feminino, com cerca de 400g de massa cada um. Começou-se por anestesiá-los ambos os ratos, depilando-se de seguida uma zona do dorso de modo a que apenas a pele ficasse exposta. Os ratos foram colocados em cima de uma tábua de modo a proceder-se às intervenções.

Denominaram-se os ratos como ST1 e ST2. No rato ST1, foram utilizadas suturas de calibre 5-0 e no rato ST2 foram utilizadas suturas de calibre 4-0.

No rato ST1 foram feitas três incisões na pele, no sentido transversal que corresponde às linhas de menor tensão da pele do dorso. Na primeira incisão foi feita uma sutura com o fio obtido da solução S6, ou seja, o fio constituído por PCL e acetato de celulose. Na segunda incisão foi feita uma sutura utilizando um fio Dexon de calibre 5-0, sendo este usado como sutura de controlo. Na terceira incisão fez-se uma sutura com um fio de calibre idêntico aos dois anteriores mas obtido a partir da solução S15, ou seja, constituído apenas por PCL. A técnica de suturar utilizada foi a sutura contínua, efectuando-se três nós para terminar o procedimento.



Figura 2.4 – Incisões realizadas no rato ST1

No rato ST2 foram feitas igualmente três incisões, mas desta vez no sentido vertical que corresponde às linhas de maior tensão. No rato ST2, foram utilizadas suturas de calibre 4-0, ou seja, um calibre superior ao calibre utilizado no rato Sutura1. A ordem do procedimento foi idêntica à ordem utilizada no rato Sutura1, isto é, na primeira incisão utilizou-se um fio de sutura da solução S6, na segunda incisão foi utilizada uma sutura Vicryl para controlo, e na terceira incisão utilizou-se novamente um fio obtido com a solução S15. Todos os fios utilizados no rato ST2 possuíam um calibre 4-0. A técnica de sutura utilizada foi a sutura contínua terminando com três nós, tal como realizado no rato Sutura1.

Depois de ter sido realizado o procedimento os ratos ST1 e ST2 foram observados ao fim de dois dias e ao fim de uma semana. Nestas duas ocasiões, observaram-se apenas o aspecto exterior das suturas e dos ferimentos.

Ao fim de duas semanas de terem sido suturados, foi feita uma biópsia de tecidos da zona suturada para posterior análise histológica.



# Capítulo 3

## Apresentação e Discussão de Resultados

### 3.1 Processo de electrofiação

Começou-se por estudar soluções preparadas com mistura de clorofórmio e acetona. Variaram-se as concentrações de PCL e acetato de celulose e as proporções de clorofórmio e acetona.

Tabela 3.1 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e acetona.

Denominação	Clorofórmio (% p/p)	Acetona (% p/p)	PCL (% p/p)	Acetato de Celulose (% p/p)	Resultado
S1	50	50	10	0,4	×
S2			10	-	×
S3			15	0,6	×
S4	75	25	10	0,4	×

Quando se começou a estudar os parâmetros ideais de produção de fibras com a solução S1 observou-se formação e acumulação de gota na ponta da agulha. Para corrigir este problema variou-se a distância entre a solução e o colector, o caudal da solução e a tensão aplicada. Em todos os conjuntos de parâmetros verificou-se sempre o mesmo fenómeno: formação e acumulação de gota.

Experimentou-se, inicialmente, variar as concentrações de PCL e de acetato de celulose. Durante todo o processo de experimentação dos vários parâmetros de electrofiação observou-se sempre formação e acumulação de gota na ponta da agulha.

Quando se alterou a proporção de solventes na solução S4 observou-se igualmente a formação de gota durante a electrofiação. A gota que se formou de todas as vezes que se

efectuou a electrofiação de uma solução, impossibilitou a produção de fibras uniformes e de boa qualidade uma vez que secou o que impedia a formação correcta do jacto.

Todas as deposições feitas com as soluções contendo acetona apresentaram contas e gotas. A acetona possui um ponto de ebulição de 56,3° C. Comparando com o ponto de ebulição do clorofórmio (61,2° C), a acetona apresenta um valor ainda mais baixo, o que sugere que durante o processo de electrofiação a formação de gota foi devida a uma evaporação precoce do solvente.

Depois de concluir que a acetona não correspondia às expectativas como co-solvente destas soluções, decidiu-se substituir a acetona por *N,N* – dimetilacetamida (DMAc).

Tabela 3.2 - Composição das soluções em que o solvente era uma mistura de clorofórmio e *N,N* – dimetilacetamida.

Denominação	Clorofórmio (% p/p)	<i>N, N</i> Dimetilacetamida (% p/p)	PCL (% p/p)	Acetato de Celulose (% p/p)	Resultado
S5	50	50	10	0,4	×
S6	60	40	15	0,6	✓
S7			20	0,8	×
S8			15	-	✓
S9			15	0,3	✓
S10			15	0,9	✓
S11			15	1,2	✓
S12	70	30	15	0,6	×

Durante o processo de electrofiação da solução S5 não se observou, em nenhum caso a formação de gota na ponta da agulha. No entanto, quando analisadas ao microscópio óptico observaram-se fibras irregulares, não uniformes e com a presença de contas e gotas. Para eliminar as contas experimentou-se aumentar a concentração de PCL e acetato de celulose, de modo a aumentar a viscosidade, e variaram-se as proporções de clorofórmio e DMAc.

A solução S6, quando electrofiada com caudais muito baixos (0,1ml/h) apresentou dificuldades na produção de fibras uma vez que com tensões de 12 kV houve formação da gota e com 15 kV não se formou um único jacto mas sim vários jactos que saíram lançados da agulha para o colector. A utilização de um caudal tão baixo resultou em fibras altamente irregulares e não uniformes. Experimentou-se aumentar o caudal para 0,3ml/h e 0,5ml/h. Juntamente com esta alteração variou-se também a tensão aplicada. Observaram-se todas as deposições feitas com os vários conjuntos de parâmetros e decidiu-se que as melhores fibras, quer a nível de uniformidade quer a nível de regularidade, foram obtidas com os parâmetros: 25 cm; 0,5 ml/h e 15 kV.

Para estudar a influência da concentração de PCL e do acetato de celulose na produção de fibras testaram-se outras soluções variando a sua concentração. Numa primeira fase,

aumentou-se a concentração de PCL e acetato de celulose simultaneamente (S7). Para que a solução ficasse totalmente dissolvida, teve de se recorrer aos ultra-sons. Depois de estar pronta, verificou-se que a solução se apresentava muito viscosa. Foi feito o estudo das condições ideais de produção de fibras, no entanto, não se obteve nenhum conjunto de fibras regulares observando-se contos nalgumas deposições juntamente com as fibras. Por esta razão decidiu-se abandonar esta solução.

De seguida testaram-se soluções onde se mantiveram as concentrações e as proporções de PCL, clorofórmio e DMAc e variaram-se as concentrações de acetato de celulose.

As soluções S9 e S10 foram estudadas do mesmo modo que se estudou a solução S6, obtendo-se parâmetros de produção idênticos: 25 cm; 0,5 ml/h e 15 kV. A solução S11 teve uma concentração de acetato de celulose maior que as restantes soluções, e, por este facto, a viscosidade desta solução também foi superior, o que permitiu que, durante os testes de electrofiação, se aumentasse a tensão aplicada. Com tensões inferiores a 18 kV observou-se formação e acumulação de gotas com alguns conjuntos de parâmetros. Tal deve-se ao facto da solução se ter tornado mais viscosa. Quando se aumentou a tensão para os 18 kV começou-se a obter melhores condições de produção. No entanto, apenas se obtiveram fibras uniformes e de boa qualidade quando os parâmetros foram: 25 cm; 0,5 ml/h e 18kV. Das soluções S9 e S10 para a solução S11, os parâmetros ideais apenas diferiram na tensão aplicada durante a electrofiação.

Para analisar a influência do acetato de celulose neste tipo de soluções, produziu-se uma solução onde o acetato de celulose foi eliminado, mantendo apenas o PCL (S8). Analogamente ao que se fez com a solução S6, procedeu-se ao estudo das condições de produção de fibras da solução S8 variando os três parâmetros principais: distância, taxa de fluxo e tensão aplicada. Conseguiu-se produzir fibras uniformes utilizando parâmetros idênticos aos utilizados nas soluções S6, S9 e S10: 25 cm; 0,5 ml/h e 15kV.

Para analisar a influência das proporções de concentração dos solventes, experimentou-se uma solução onde se aumentou o clorofórmio e diminuiu a DMAc (S12). Depois de fazer o estudo das condições analisaram-se as deposições e verificou-se que estas apresentaram uma textura rugosa. Isto sugere que a mistura de solventes usada nesta solução não dissolve correctamente o acetato. Verificou-se também que as fibras obtidas com a solução S12 não foram uniformes nem regulares pelo que se decidiu abandonar esta solução.

Experimentou-se substituir o acetato de celulose por triacetato de celulose, composto igualmente derivado da celulose.

Tabela 3.3 - Composição das soluções em que o solvente usado foi o clorofórmio.

Denominação	Clorofórmio (% p/p)	PCL (% p/p)	Triacetato de Celulose (% p/p)	Resultado
S13	100	10	0,4	×
S14		10	-	✓
S15		15	-	✓

Depois de preparada, verificou-se que a solução S13 não dissolveu o triacetato de celulose uma vez que se observou no fundo do frasco uma parte da solução sólida. O triacetato dissolve-se em solventes orgânicos, no entanto não se dissolveu no clorofórmio. Esta solução foi dispensada.

As soluções S14 e S15 não foram estudadas intensivamente uma vez que os parâmetros necessários para produzir fibras uniformes e regulares com estas soluções foram previamente investigados em vários estudos

Os parâmetros utilizados para produção de fibras com estas soluções foram de 25 cm; 0,5 ml/h e 13 kV.

Decidiu-se continuar o estudo com a solução S14 e descartar a solução S13 uma vez que as restantes soluções escolhidas possuíam a mesma concentração de PCL, podendo assim fazer-se uma comparação correcta dos resultados das deposições.

Tabela 3.4 - Composição das soluções em que o solvente usado foi a N,N – dimetilacetamida.

Denominação	N, N Dimetilacetamida (% p/p)	PCL (% p/p)	Resultado
S16	100	15	×
S17		18	×

Experimentou-se ainda soluções onde se substituiu o clorofórmio por DMAc. Com a solução S16 variou-se a distância entre a agulha e o colector, a tensão aplicada e o caudal, no entanto todas as deposições obtidas apresentaram gotas. Para corrigir este problema decidiu-se aumentar a concentração de PCL para 18%. Quando observadas ao microscópio óptico, todas as deposições resultantes da electrofiação da solução S17 apresentaram fibras irregulares. Uma vez que com nenhuma destas soluções se conseguiu obter fibras uniformes e regulares, decidiu-se abandonar as soluções S16 e S17.

No final de estudar as várias soluções produzidas eliminaram-se oito soluções. As principais conclusões foram:

- ✓ As soluções constituídas por uma mistura de clorofórmio e acetona, independentemente das concentrações de PCL e acetato de celulose, não permitem a produção de fibras uniformes e regulares.

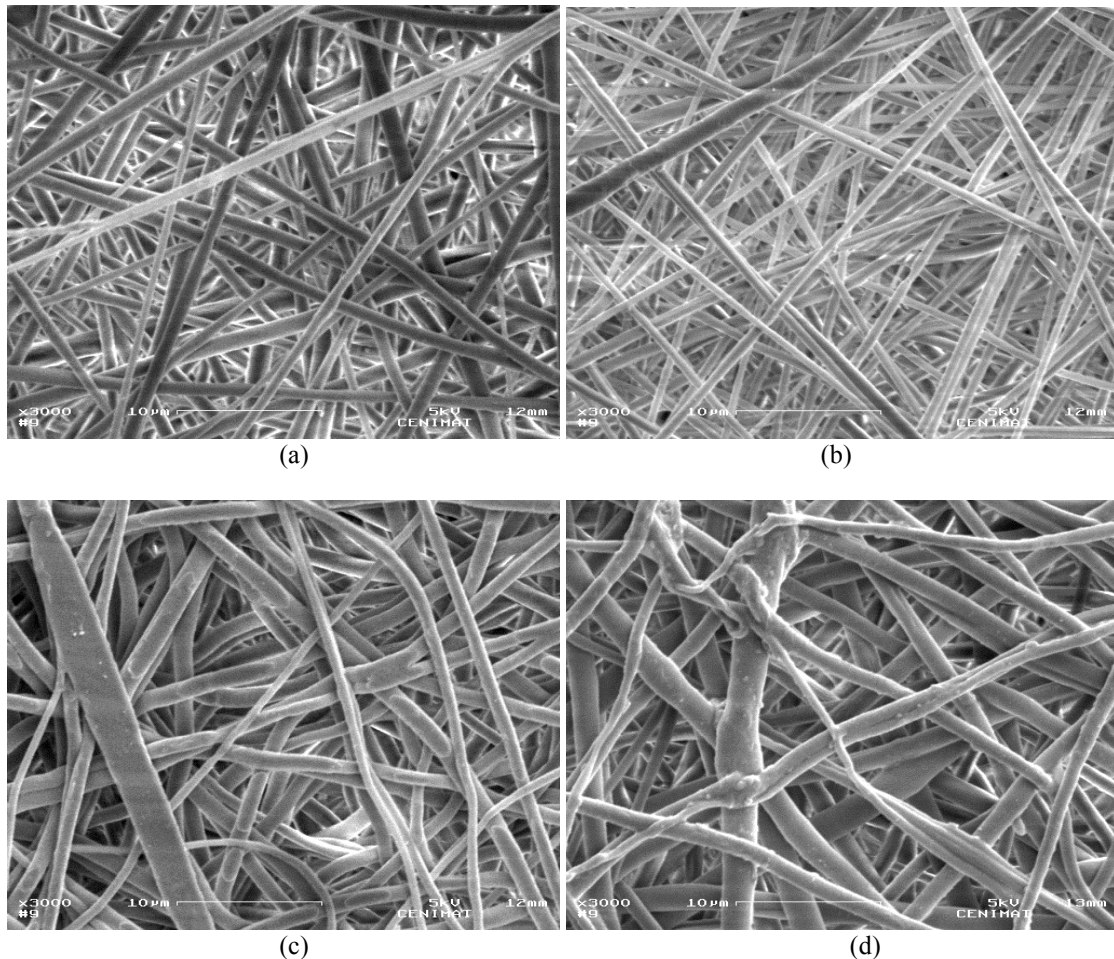


- ✓ A mistura de clorofórmio e DMAc na proporção correcta resulta numa produção de fibras com boa qualidade.
- ✓ O triacetato de celulose não se dissolve em clorofórmio ao contrário do que consta da bibliografia consultada, e por isso foi eliminado do estudo.

### 3.2 Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM)

Para confirmar a qualidade das fibras quer ao nível de uniformidade quer ao nível de regularidade foram submetidas pequenas amostras das soluções que apresentaram um resultado positivo, ao SEM.

As imagens obtidas foram as seguintes:



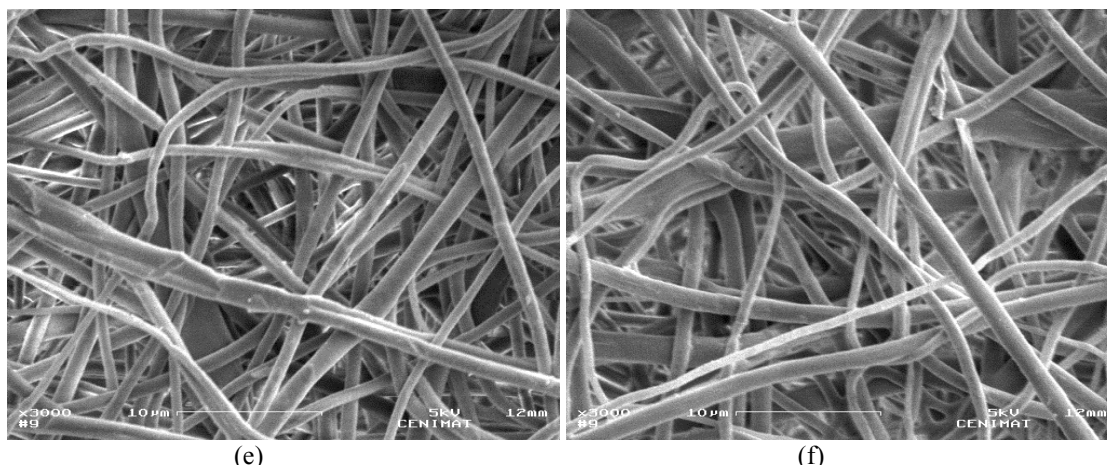


Figura 3.1 - Imagens das deposições observadas no SEM (a) S6; (b) S8 (c) S8-3; (d) S9; (e) S10 e (f) S11

De um modo geral as soluções que apresentaram melhores fibras foram S6 e S8. Nestas duas soluções as fibras não só apresentaram uma maior uniformidade como também mostraram ser as mais regulares. As fibras encontradas em (a) apresentam diâmetros de  $(955 \pm 0,093)$  nm, e as fibras da deposição da solução S8, como se pode ver pela imagem (b), apresentam diâmetros de  $(780 \pm 0,064)$  nm.

A Figura 3.1- (c) pertence à solução S8-3. Esta solução foi idêntica à solução S8 com a diferença do tempo de deposição que foi de dez horas, metade do tempo de S8. Nos testes de tracção verificou-se que estas amostras não partiram em camadas, ao contrário das amostras de S8, no entanto as fibras vistas através do SEM mostraram ser irregulares. Na imagem observam-se fibras com diferentes diâmetros, desde aproximadamente 963 nm até 2871 nm. Observa-se também que existem fibras que estão unidas entre si.

Cada uma das imagens (d), (e) e (f) corresponde a fibras com diferentes concentrações de acetato de celulose e a mesma concentração de PCL. As imagens (d) e (f) mostraram fibras irregulares e não uniformes, encontrando-se vários diâmetros diferentes. Nestas duas imagens encontra-se fibras com diâmetros desde aproximadamente 800 nm até fibras com quase o dobro do diâmetro. Estas imagens correspondem ao mínimo e máximo de percentagem de concentração de acetato de celulose utilizado no trabalho, respectivamente. Na imagem (e) observaram-se fibras uniformes mas não regulares. Em algumas zonas observaram-se igualmente fibras unidas entre si.

Da análise das fibras através do Microscópio Electrónico de Varrimento, concluiu-se que:

- ✓ As fibras obtidas das soluções S6 e S8 mostraram ser as mais regulares e uniformes, com diâmetros entre os 700 nm e os 1000 nm.
- ✓ As fibras originadas pelas soluções S8-3, S9, S10 e S11 mostraram não só serem muito irregulares como se observaram zonas onde ocorreu a união de duas ou mais fibras.

### 3.3 Ensaio Mecânicos

#### ➤ Testes de tracção

O passo seguinte foi caracterizar as fibras de acordo com as suas propriedades mecânicas. Para tal procedeu-se a testes de tracção à ruptura de várias amostras das soluções S6, S8, S8-2, S8-3, S9, S10 e S11.

#### Solução S6

A Figura 3.2 mostra as curvas de tracção efectuadas às amostras da solução S6 composta por PCL e acetato de celulose em clorofórmio e DMAc

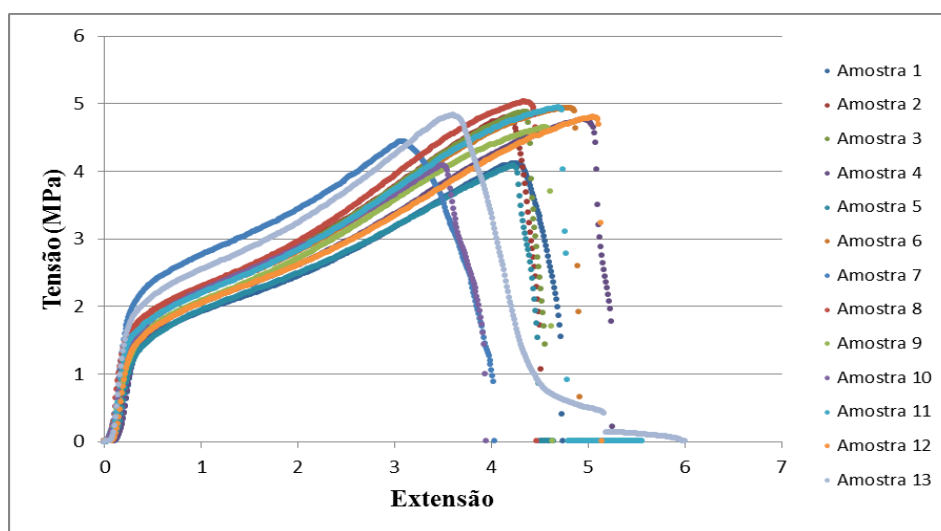


Figura 3.2 - Tensão *versus* Extensão das amostras da solução S6 traccionadas até à ruptura.

Através das curvas de tracção das amostras de S6 verificou-se que todas as amostras têm um comportamento idêntico quando sujeitas à tracção.

Na tabela seguinte encontram-se os valores médios e os respectivos desvios padrão das características das amostras de S6 sujeitas aos testes de tracção.

Tabela 3.5 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S6.

	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
Média	4,3	4,6	11,0
Desvio Padrão	0,6	0,4	1,7

## **Solução S8**

De seguida foram feitos testes de tracção às amostras da solução S8 composta por PCL 15% em clorofórmio:DMAc (60:40). Estas amostras foram igualmente traccionadas até à ruptura. Os resultados obtidos encontram-se na figura e tabela seguintes.

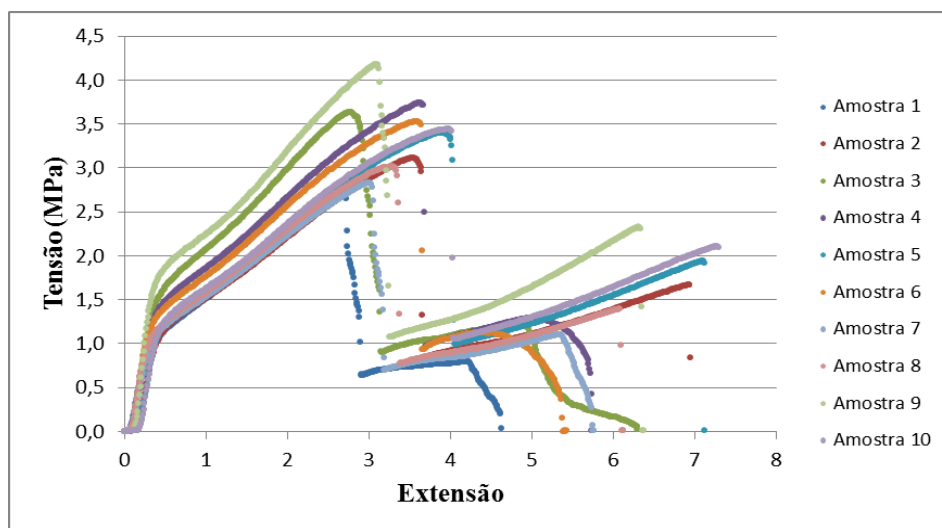


Figura 3.3 - Tensão *versus* Extensão das amostras da solução S8 traccionadas até à ruptura.

Tabela 3.6 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S8

	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
<b>Média</b>	3,4	3,4	6,30
<b>Desvio Padrão</b>	0,4	0,4	1,4

Durante o decorrer dos testes de tracção das amostras da solução S8 observou-se um fenómeno invulgar. Enquanto as amostras estavam a ser esticadas, as mesmas atingiram um ponto onde ocorreu uma ruptura parcial da amostra que se separou em duas camadas. Este fenómeno está patente na Figura 3.3 onde se observa a ruptura da primeira e por fim, da segunda camada.

A solução S8 é constituída por PCL numa mistura de clorofórmio e dimetilacetamida. O que se verificou neste estudo foi que o módulo de Young determinado para estas fibras é menor que o obtido para a solução S6. Analisando este facto podemos concluir que estas fibras constituem um material mais elástico que as fibras compostas por PCL e acetato de celulose. O PCL é um material bastante deformável e a adição de acetato de celulose provocou uma diminuição ductilidade das fibras, como era pretendido. No entanto, verificamos que a extensão máxima (correspondente à ruptura da 1ª camada) destas amostras é inferior às amostras anteriores. A tensão à ruptura destas amostras também foi menor que aquela suportada pelas amostras de S6. Ao observar as Figuras 3.2 e 3.3 concluímos que, no final, as amostras de S8 sofreram uma deformação total superior às de S6.

O facto de, durante os testes de tracção, as amostras de PCL partirem em duas camadas, sugeriu que a deposição ocorreu em duas fases distintas. A hipótese sugerida foi que durante a realização da solução não ocorreu a mistura do clorofórmio com a dimetilacetamida. A olho nu não foi visível qualquer diferença visto que ambos os solventes são incolores. Contudo, pode ter havido uma separação de fases na solução. Durante o processo de electrofiação, a seringa foi colocada horizontalmente fazendo com que o solvente com a densidade maior, neste caso o clorofórmio, ficasse em baixo sendo esta mistura depositada primeiro. A solução com o solvente menos denso seria depositada no fim ficando esta camada por cima. Deste modo a deposição final seria constituída por duas camadas distintas, com tensões de ruptura diferentes. Esta hipótese nunca foi provada.

### **Solução S8-2**

De seguida repetiu-se a solução S8, designando a nova por S8-2. Esta nova solução foi depositada durante 20h seguidas com as mesmas condições de electrofiação utilizadas na solução S8. Depois de terminada a deposição, cortaram-se igualmente dez amostras de 3 cm por 1 cm e mediram-se as suas espessuras.

Submeteram-se estas amostras a testes de tracção até à ruptura para comparar os resultados com os resultados obtidos nos testes de tracção das amostras da solução S8.

Os resultados das amostras da solução S8-2 foram os seguintes:

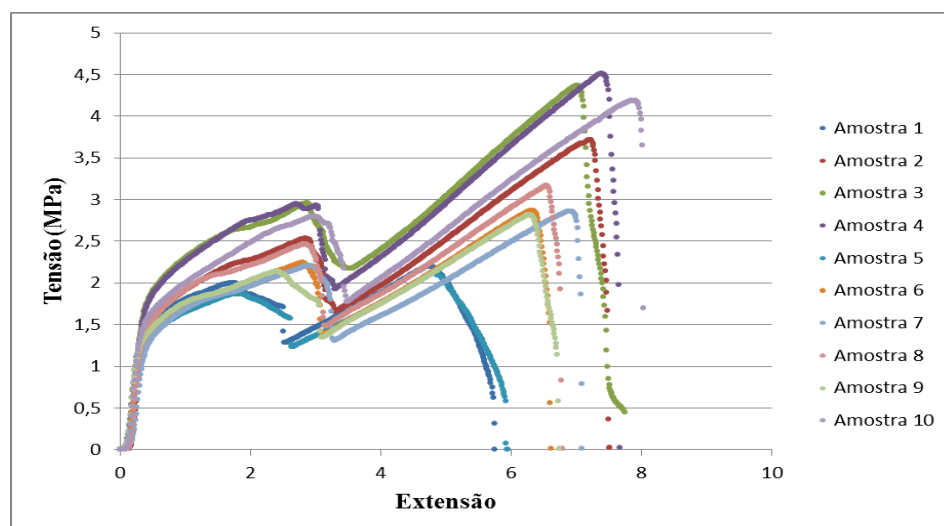


Figura 3.4 - Tensão *versus* Extensão das amostras da Solução S8-2 traccionadas até à ruptura



Tabela 3.7 - Média e Desvio Padrão dos valores determinados das amostras de S8-2

	<b>Extensão à Ruptura</b>	<b>Tensão à Ruptura (MPa)</b>	<b>Módulo de Young (MPa)</b>
<b>Média</b>	6,5	3,3	8,6
<b>Desvio Padrão</b>	1,0	0,9	1

Durante os testes de tracção observou-se o mesmo fenómeno observado com S8, ou seja, as amostras quebraram novamente em duas camadas.

Ao comparar as Figuras 3.3 e 3.4 de S8 e S8-2, respectivamente, podemos ver, no caso de S8, que depois da ruptura da primeira camada, a camada que continuou a unir a amostra, nunca chegou a atingir os mesmos valores de tensão que a amostra completa suportou. As amostras de S8-2 depois de quebrarem a primeira camada suportaram tensões superiores àquelas que suportaram quando ocorreu a primeira ruptura. A tensão à ruptura média referida na tabela 3.7 corresponde à média das tensões suportadas pela segunda camada de fibras. Analisando os gráficos das curvas de tensão – deformação de ambas as amostras constatou-se que a primeira camada de fibras de S8 quebrou quando a amostra atingiu tensões entre 3 MPa e 4 MPa, enquanto a primeira camada de fibras de S8-2 quebrou com tensões entre 2 MPa e 3 MPa. As amostras de S8-2 apenas atingiram as mesmas tensões que S8 quando ocorreu a ruptura da segunda camada.

O módulo de Young de S8 é menor que o de S8-2 o que sugere que as primeiras amostras eram constituídas por um material mais ductil que o material de S8-2, embora estes sejam originários de soluções idênticas.

A conclusão que se tirou deste estudo foi que estas amostras foram obtidas de uma deposição que ocorreu igualmente em duas fases.

### **Solução S8-3**

Para continuar a procura da origem deste fenómeno, repetiu-se a solução novamente mas desta vez diminuiu-se o tempo de deposição para metade, ou seja, realizou-se uma deposição de 10h com uma solução de PCL na mistura de clorofórmio e DMAc, denominada S8-3. Procedeu-se a ensaios mecânicos de modo idêntico às restantes soluções, variando apenas o número de amostras que foram traccionadas até à ruptura (quatro), uma vez que se pretendia verificar se ocorria o mesmo fenómeno.

Os resultados constam da Figura 3.5.

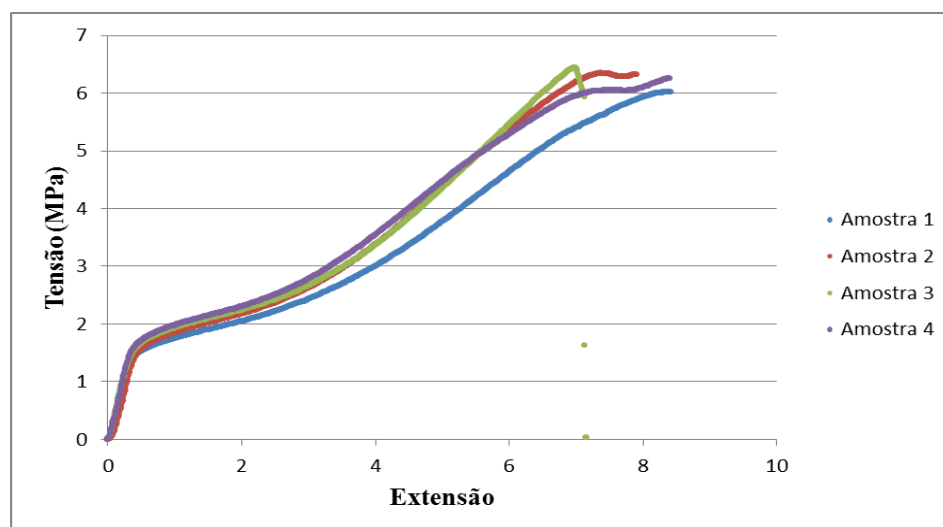


Figura 3.5 - Tensão *versus* Extensão das amostras da solução S8-3 traccionadas até à ruptura

Ao observar a Figura 3.5 observam-se diferenças em comparação com os gráficos de S8 e S8-2. Das quatro amostras de S8-3 apenas uma, a amostra 3, partiu durante o teste. A amostra 3 não se separou em duas camadas como aconteceu com as amostras das soluções anteriores. As outras três amostras não chegaram a atingir o seu ponto de ruptura, alcançando o limite de extensão da máquina de tracção.

Tabela 3.8 - Média e Desvio Padrão dos valores determinados das amostras de S8-3

	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
<b>Média</b>	7,8	6,3	5,5
<b>Desvio Padrão</b>	0,7	0,2	0,3

O módulo de Young das fibras de S8-3 é inferior ao módulo de Young das fibras obtidas através de ambas as soluções anteriores, sugerindo que estas fibras são mais dúcteis que as fibras produzidas por S8 e S8-2. A tensão máxima suportada por estas fibras é aproximadamente o dobro da tensão máxima suportada pelas amostras das soluções S8 e S8-2. Estes resultados sugerem que as amostras da solução S8-3 foram originadas a partir de uma solução única e homogénea, onde não ocorreu separação de fases. No entanto, no procedimento para produção das fibras, a única diferença entre as amostras obtidas com esta solução e as amostras obtidas com as soluções S8 e S8-2, foi o tempo de deposição durante o processo de electrofiação. Este facto refuta a hipótese de haver duas camadas distintas de fibras originadas a partir da mesma solução com fases diferentes, consoante o solvente.

## **Solução S9**

De seguida estão apresentados os resultados da solução S9 composta por PCL 15%, acetato de celulose 0,3% na mistura de clorofórmio: DMAc na proporção 60:40 (%).

Foram feitos testes de tracção à ruptura a catorze amostras da solução S9, das quais quatro (as amostras 2,5,9 e 12) apresentaram separação em duas camadas.

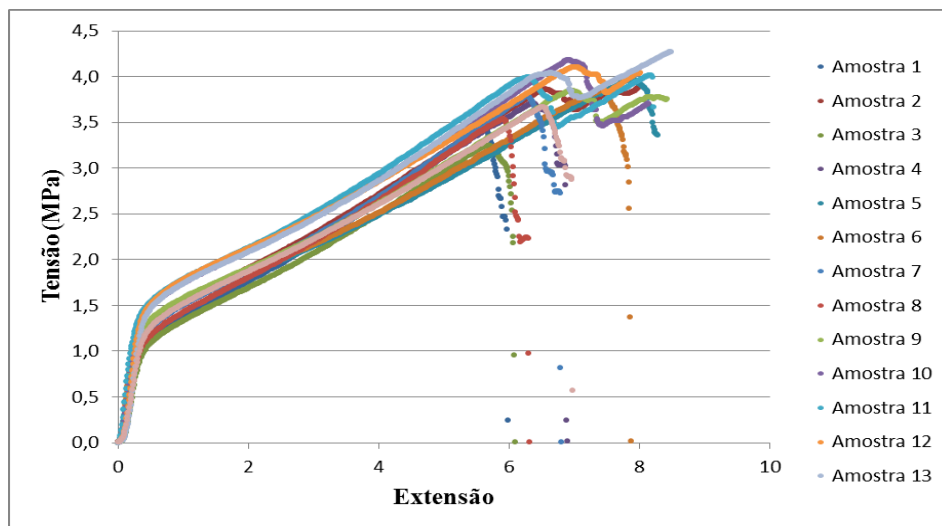


Figura 3.6 - Tensão *versus* Extensão das amostras da solução S9 traccionadas até à ruptura.

Tabela 3.9 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S9

	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
<b>Média</b>	7,0	3,8	5,5
<b>Desvio Padrão</b>	0,9	0,3	0,7

As amostras 2, 5, 9 e 12 foram as amostras que apresentaram uma espessura inicial mais elevada, juntamente com a amostra 13 (ver tabela A.5 do anexo I). A amostra 13, por sua vez, não partiu em camadas. Além da espessura, estas amostras exibiram valores do módulo de Young mais elevados. Porém, a amostra 13 também apresentou valores mais elevados que as restantes amostras mas durante o teste de tracção não partiu em camadas. Uma vez que o módulo de Young é uma medida da rigidez elástica do material (resistência à deformação plástica), pode-se afirmar que estas amostras (2, 5, 9, 12 e 13) mostraram ser mais rígidas que as outras. No entanto, os valores de tensão máxima suportada por estas amostras, como se pode observar no gráfico 3.10, não diferem das restantes amostras.

Ao comparar os módulos de Young da solução S6 e S9, vemos que uma diminuição na concentração de acetato de celulose para metade diminuiu o módulo de Young para aproximadamente metade. A tensão máxima suportada por S9, comparada com a tensão de S6, duplicou aproximadamente o seu valor médio.



As fibras de S9 mostraram não só serem mais dúcteis como suportarem tensões superiores às fibras obtidas através da solução S6.

### **Solução S10**

De seguida foram feitos testes de tracção à ruptura a dez amostras da solução S10. Esta solução é composta por PCL 15%, acetato de celulose 0,9% na mistura clorofórmio: DMAc 60:40 (%).

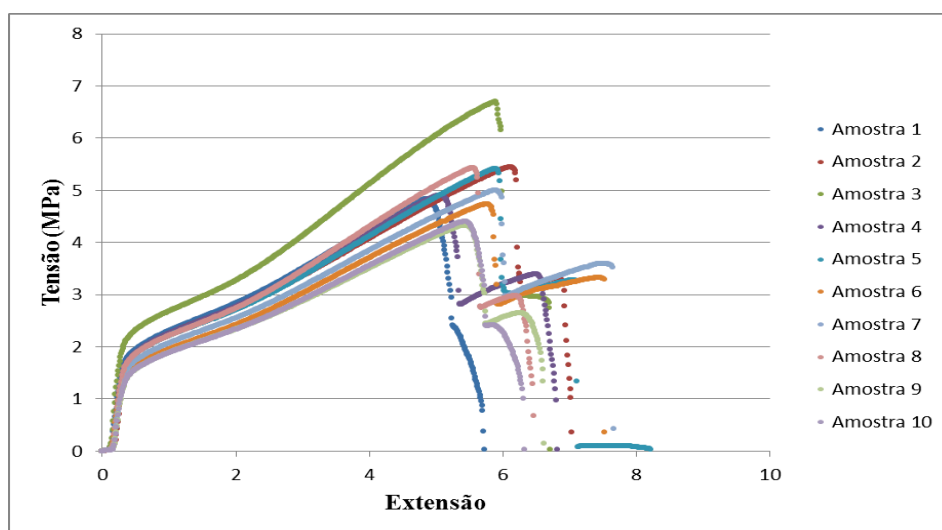


Figura 3.7 - Tensão *versus* Extensão das amostras da solução S10 traccionadas até à ruptura

Durante os testes de tracção das amostras da solução S10, observou-se novamente a quebra das amostras em duas camadas. Os gráficos obtidos através dos testes de tracção destas amostras são semelhantes aos obtidos com a solução S8. Ao analisar o gráfico 3.7 vemos que, tal como aconteceu com S8, depois de partir a primeira camada, o resto da amostra que se manteve unida não conseguiu suportar tensões iguais ou superiores às que foram suportadas até à ruptura da primeira camada.

Tabela 3.10 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S10

	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
<b>Média</b>	5,6	5,1	12,0
<b>Desvio Padrão</b>	0,4	0,7	1,6

## Solução S11

Posteriormente foi feita uma solução semelhante à anterior, mas aumentando a concentração de acetato de celulose para 1,2%, e mantendo iguais os restantes componentes da solução.

Na Figura 3.8 está representado o gráfico tensão-deformação das amostras de S11.

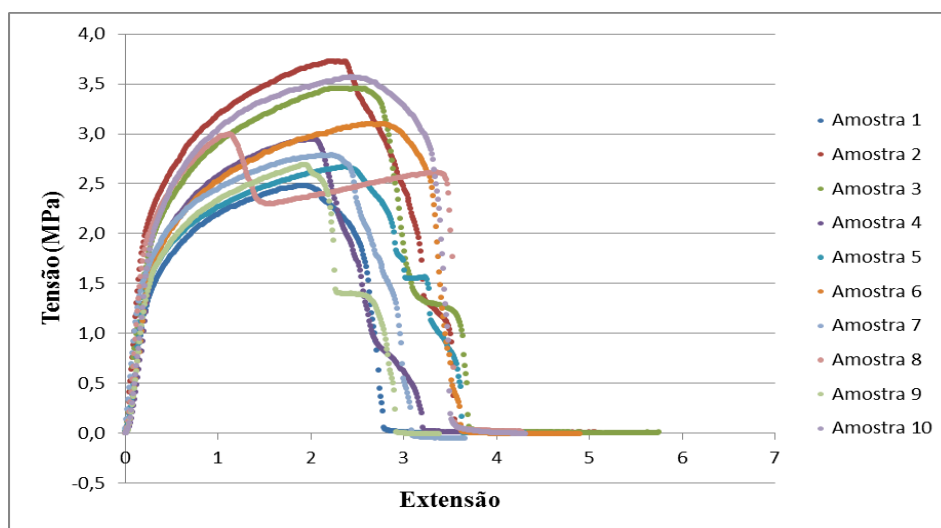


Figura 3.8 - Tensão *versus* Extensão das amostras da solução S11 traccionadas até à ruptura.

Ao observar o gráfico tensão-deformação das amostras da solução S11 constata-se que algumas amostras se separam em camadas. Embora todas as amostras apresentem um comportamento idêntico, verifica-se que este comportamento não é semelhante ao apresentado pelas amostras das soluções anteriores.

Tabela 3.11 - Média e Desvio padrão dos valores determinados das amostras de S11

	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
<b>Média</b>	2,1	3,0	9,3
<b>Desvio Padrão</b>	0,4	0,4	1,8

Nas figuras seguintes podemos observar a relação entre a deformação à ruptura, a tensão à ruptura e o módulo de Young em função da concentração de acetato de celulose.

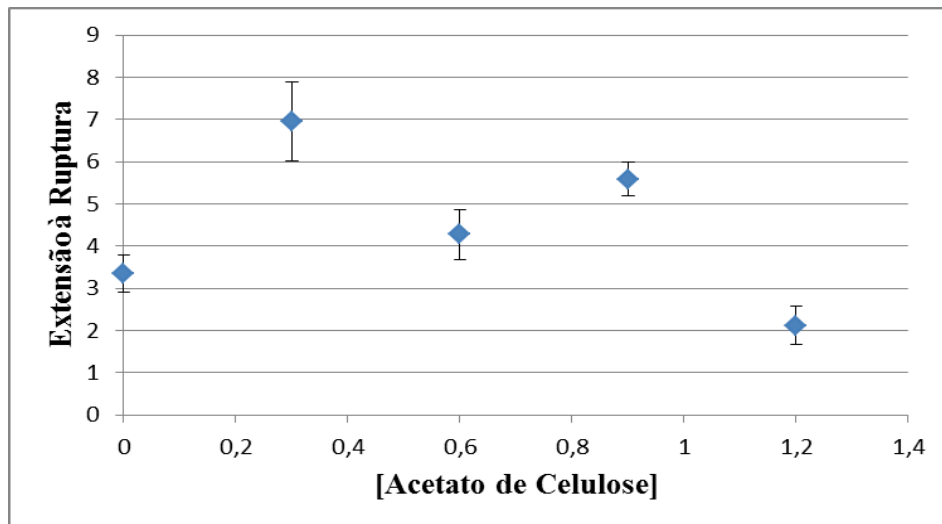


Figura 3.9 - Extensão à ruptura em função da concentração de acetato de celulose.

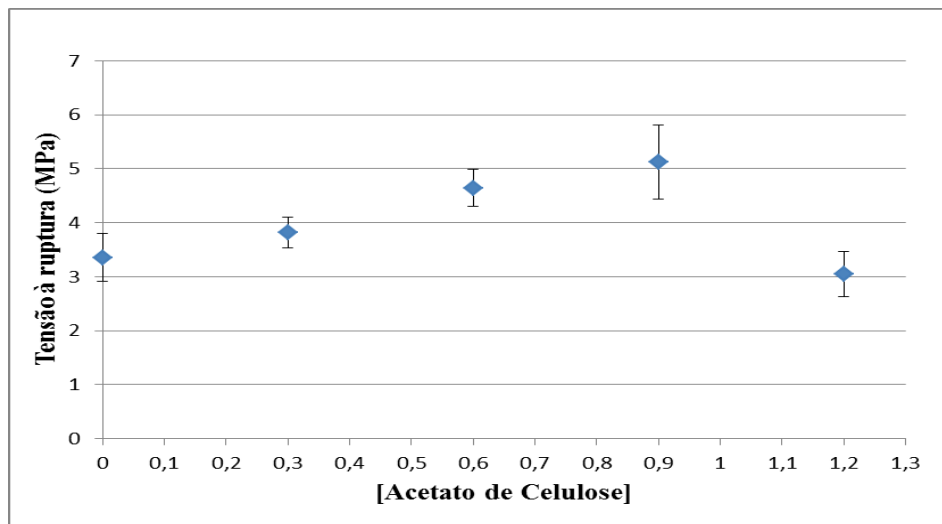


Figura 3.10 - Tensão à ruptura em função da concentração de acetato de celulose.

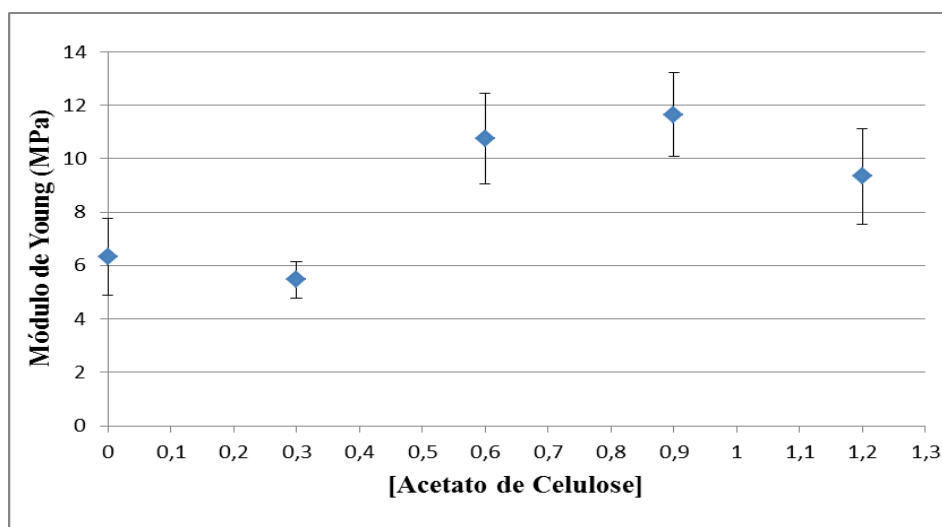


Figura 3.11 – Módulo de Young em função da concentração de acetato de celulose.

Na Figura 3.9 observa-se a deformação à ruptura em função da concentração de acetato de celulose. Não é visível nenhuma proporcionalidade directa entre a concentração e a deformação das amostras. Quando se adicionou acetato de celulose 0,3%, a deformação aumentou consideravelmente. À medida que se aumentou a concentração a deformação diminuiu, à excepção de S10 onde a concentração é de 0,9%. Quando a concentração de acetato de celulose foi de 1,2% a deformação diminuiu bastante.

Ao analisar os gráficos apresentados nas Figuras 3.10 e 3.11 verifica-se que o aumento da concentração de acetato de celulose provocou o mesmo efeito na tensão à ruptura e no módulo de Young, isto é, à medida que a concentração aumentou, ambos os parâmetros aumentaram à excepção de S11, onde a concentração é de 1,2%. O aumento da concentração de acetato de celulose fazia prever um aumento no módulo de Young uma vez que o material se tornaria mais rígido. No entanto, o que se observou foi que o módulo de Young de S11 diminuiu em relação a S10, onde a concentração do acetato de celulose é de 0,9%. Contudo, à excepção desta solução o aumento do acetato de celulose tornou as fibras menos elásticas.

## ➤ Testes de Compressão

### **Solução S6**

Depois de terem sido realizados os testes de tracção à ruptura às amostras das soluções S6, S8, S8-2, S8-3, S9, S10 e S11 procedeu-se à realização de testes de compressão apenas a amostras da solução S6, uma vez que foi a única solução que não se separou em duas camadas. Nestes testes submeteram-se amostras à tracção e após terem atingido um valor limite de extensão retirou-se a tensão das mesmas até atingirem o ponto de tensão nula.

Os dados obtidos estão representados no gráfico da Figura 3.12.

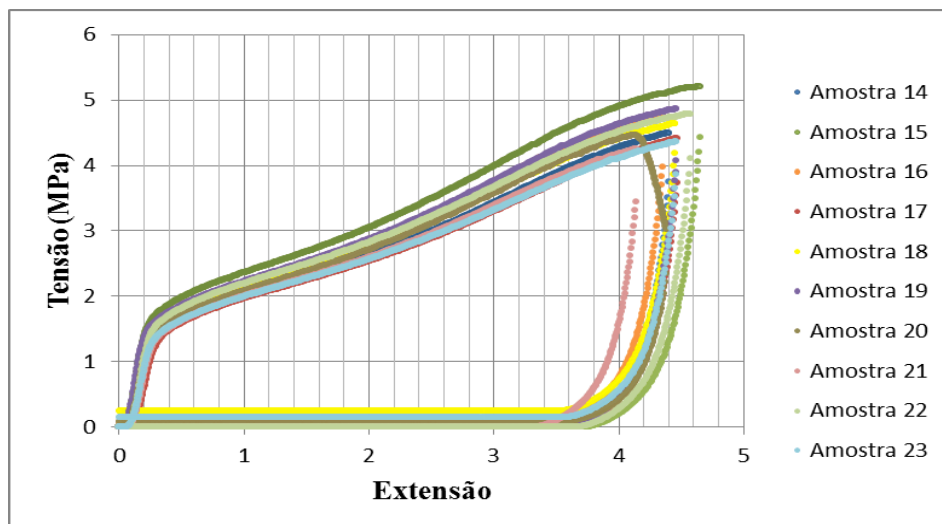


Figura 3.12 – Resultados obtidos para 1 ciclo de histerese mecânica das amostras de S6.

As amostras foram esticadas até atingirem um alongamento de 49 mm. De seguida foram submetidas a um teste de compressão.

Ao analisar o gráfico da Figura 3.12 verifica-se que os testes de compressão iniciam-se sempre com uma tensão inferior à tensão máxima obtida aquando da suspensão do teste de tracção. Não existe nenhuma causa aparente para tal acontecer pelo que a origem deste fenómeno foi inconclusivo.

Tabela 3.12 – Média e desvio padrão dos valores das amostras de S6 sujeitas ao teste de compressão.

	<b>Tensão Final (MPa) Tracção</b>	<b>Tensão Inicial (MPa) Compressão</b>	<b>Alongamento (mm)</b>
<b>Média</b>	4,6	4	-9,7
<b>Desvio Padrão</b>	0,3	0,6	-0,2

Na Tabela 3.12 o alongamento apresentado diz respeito à diminuição de tamanho sofrido pelas amostras até atingirem a tensão nula, após lhes ser retirada a tensão.

### ➤ Ciclos de Histerese

Os ciclos de histerese são caracterizados por submeter amostras a três tracções seguidas, intercaladas com duas compressões.

## **Solução S6**

O objectivo principal destes testes foi averiguar a resposta das amostras constituídas por PCL e acetato de celulose quando são sujeitas a testes de tracção e compressão sucessivos.

Nas duas primeiras tracções utilizou-se 80% do valor registado como extensão máxima à ruptura, determinado pelos testes de tracção feitos inicialmente, para garantir que as amostras não quebravam durante o teste. As amostras foram sujeitas a um alongamento de 37,9 mm na primeira tracção. Sem nunca retirar as amostras da máquina de tracção realizaram-se mais duas tracções alternadas com duas compressões. A deformação (alongamento) a que as amostras foram sujeitas durante a fase de compressão foi determinado recorrendo aos resultados dos testes de compressão previamente realizados. Através dos gráficos obtidos pela compressão constata-se que as amostras atingem a força nula quando são comprimidas até atingirem  $\Delta l = (-9,6 \pm 0,2)$  mm. Para garantir que as novas amostras passassem pela força nula utilizou-se um valor superior ao limite superior do intervalo de compressão, isto é, utilizou-se o valor  $\Delta l = 12$  mm. De modo a forçar as amostras a atingirem o mesmo valor de extensão máxima que atingiram na primeira tracção, foi utilizado o valor de  $\Delta l = 12$  mm nos restantes testes de tracção e compressão, exceptuando o último teste de tracção. No último teste de tracção programou-se a máquina para traccionar a amostra até a mesma quebrar, utilizando o valor máximo permitido pela mesma (99,99 mm).

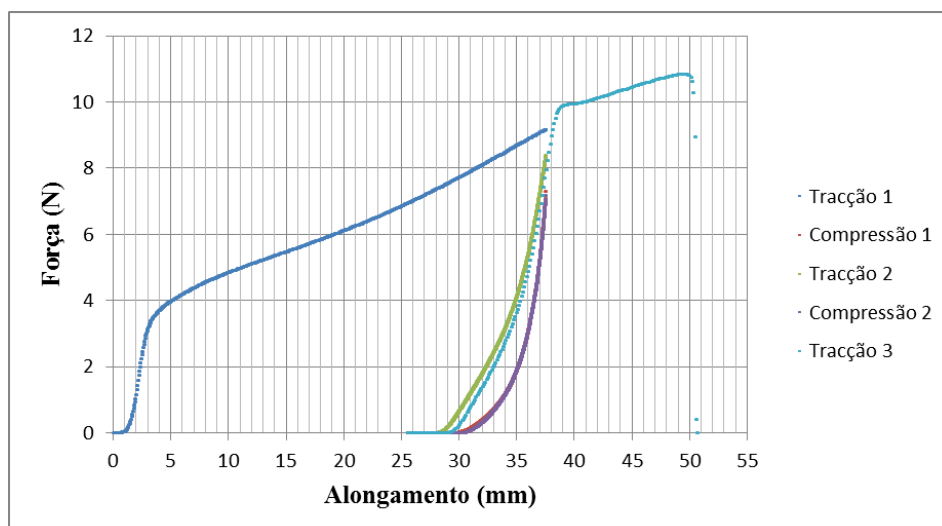


Figura 3.13 – Força *versus* Alongamento da amostra 24 de S6

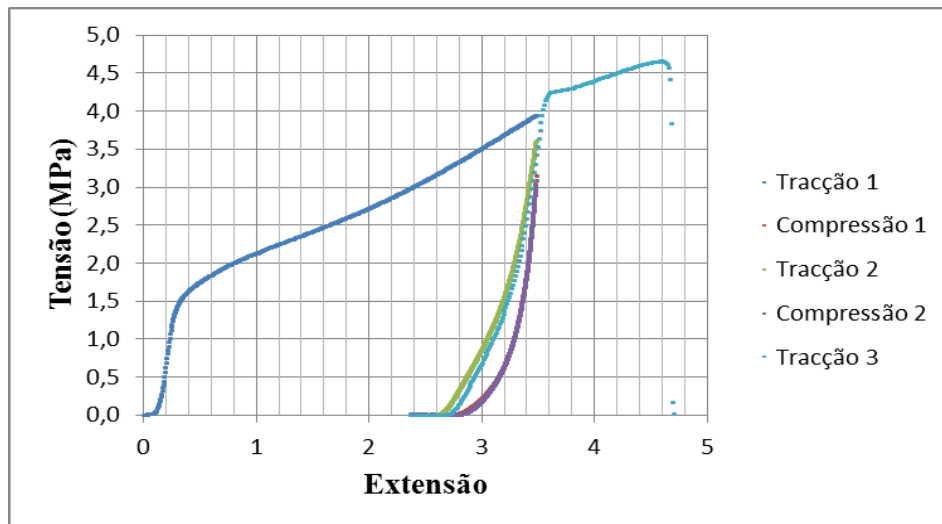


Figura 3.14 – Tensão *versus* Extensão da amostra 24 de S6

As três amostras estudadas apresentaram um comportamento semelhante, pelo que apenas estão representados os gráficos Força *versus* Alongamento e Tensão *versus* Extensão da primeira amostras sujeita a este tipo de testes mecânicos.

Na primeira tracção observamos um gráfico semelhante ao obtido quando se submeteram amostras ao teste de tracção único, como era de esperar. Quando se realizou a primeira compressão, ocorreu o mesmo que nos testes de compressão efectuados anteriormente. A tensão que as amostras mostraram suportar quando se iniciou o teste de compressão, foi inferior aos respectivos valores registados no fim da primeira tracção. A segunda tracção atingiu valores superiores ao da compressão anterior mas inferiores aos obtidos na primeira tracção. A terceira tracção foi programada para terminar quando ocorresse a ruptura da amostra. Pelos gráficos de Tensão - Extensão da terceira e última tracção das amostras, verificou-se a ruptura. A tensão máxima alcançada na terceira e última tracção (tensão de ruptura) foi superior à tensão alcançada pela mesma amostra na primeira tracção. Este conjunto de fenómenos é usualmente conhecido por efeito de Mullins [24].

Tabela 3.13 – Tensão inicial e final dos testes de tracção e compressão, respectivamente, de S6

Amostra	Tensão Máxima (MPa) Tracção 1	Tensão Máxima (MPa) Compressão 1	Tensão Máxima (MPa) Tracção 2	Tensão Máxima (MPa) Compressão 2	Tensão Máxima (MPa) Tracção 3
24	3,9	3,1	3,6	3,1	4,6
25	4,1	3,3	3,7	3,4	4,7
26	4,2	3,2	3,8	3,4	4,8

A tensão máxima suportada por estas amostras na terceira e última tracção é semelhante à suportada pelas amostras quando sujeitas à tracção até à ruptura. Isto provou que após sofrer

deformações à tracção e compressão sucessivas (ciclos de histerese), as amostras suportam valores de tensão máximos idênticos às amostras quando não são sujeitas a este tipo de deformações.

As amostras deformaram-se no total 12 mm no sentido oposto ao da tracção, em cada um dos testes de compressão. No primeiro teste de compressão, as amostras atingiram a força nula quando se deslocaram ( $7,5 \pm 0,3$ ) mm. Na segunda compressão as amostras deslocaram-se ( $6,95 \pm 0,06$ ) mm. Estes valores de extensão correspondem à deformação elástica que as amostras sustentaram. A diferença entre estes valores e o alongamento inicial (37,9 mm) corresponde à deformação plástica sofrida pelas amostras.

As amostras constituídas por PCL e acetato de celulose mostraram possuir propriedades mecânicas adequadas para produzir um fio de sutura viável. Ao comparar a força máxima suportada por este material, determinada através dos testes de tracção à ruptura realizados inicialmente, com a Tabela 1.3 verifica-se que com este material é possível obter fios com uma resistência à tracção semelhante aos fios de sutura absorvíveis sintéticos de calibre 4-0.

### **Solução S15**

De seguida, procedeu-se a ciclos de histerese às amostras da solução S15 composta por PCL 15% em clorofórmio 100%. Estas amostras não foram submetidas a testes de tracção à ruptura uma vez que esse estudo já tinha sido realizado, concluindo-se que as amostras com as dimensões 3 cm de comprimento por 1 cm de largura não quebravam dentro dos limites permitido pelo aparelho de tracção utilizado.

Tal como sucedeu com as amostras de S6, o objectivo principal destes testes foi averiguar a resposta das amostras de PCL quando são sujeitas a testes de tracção e compressão sucessivos. As três amostras testadas apresentaram um comportamento semelhante pelo que apenas estão representados os gráficos obtidos de uma amostra.



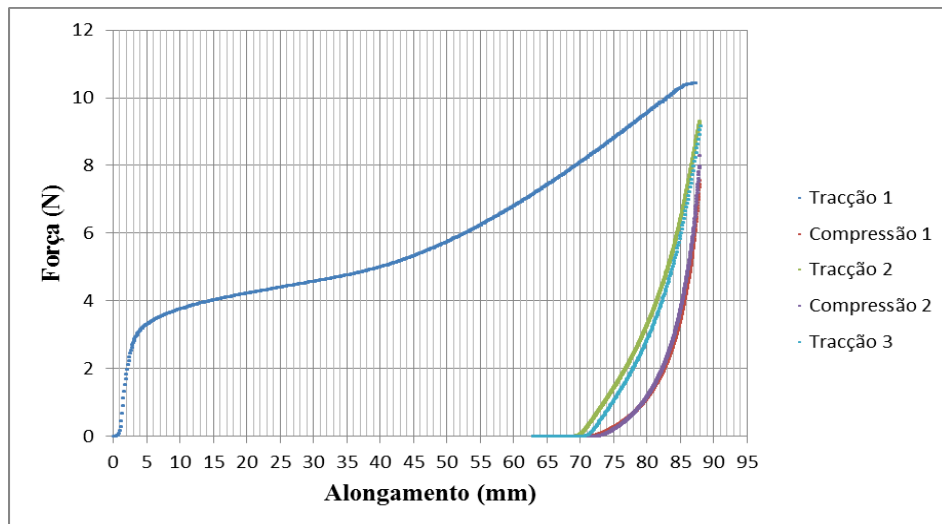


Figura 3.15 - Força *versus* Alongamento da amostra 1 de S15.

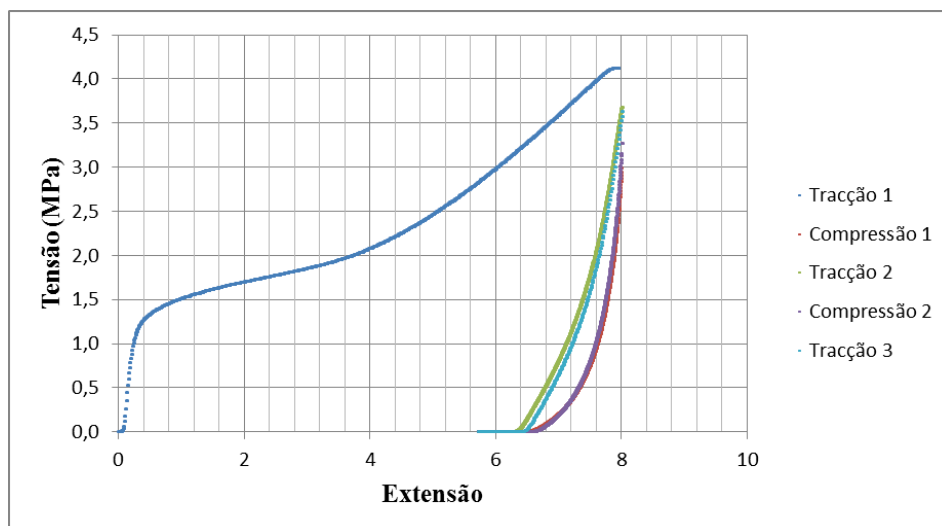


Figura 3.16 – Tensão *versus* Extensão da amostra 1 de S15.

Com as amostras de PCL o limite de extensão utilizado nos testes de tracção foi o limite permitido pela máquina, ou seja, utilizou-se um alongamento máximo de 99,99 mm. Nenhuma amostra atingiu o ponto de ruptura. A terceira tracção, tal como nos testes efectuados às amostras de S6, tinha o objectivo de traccionar as amostras até estas quebrarem, o que não aconteceu. Durante a primeira compressão, as amostras deslocaram-se ( $-16,0 \pm 0,3$ ) mm até atingirem a força nula enquanto na segunda compressão deslocaram-se ( $-15,4 \pm 0,2$ ) mm. Estas deformações correspondem a uma deformação elástica. As amostras sofreram uma deformação plástica significativa que fez com que passassem de um comprimento inicial de 10 mm para um comprimento de cerca de 80 mm. Entre as compressões, ocorreu uma tracção, que embora tenha sido com a mesma extensão utilizada na compressão anterior, provocou nas amostras uma pequena perda de ductilidade. Esta perda de ductilidade deve-se à quebra das ligações de fibras que constituem as amostras.

Tabela 3.14 – Tensão inicial e final dos testes de tracção e compressão, respectivamente, de S15

<b>Amostra</b>	<b>Tensão Máxima (MPa) Tracção 1</b>	<b>Tensão Máxima (MPa) Compressão 1</b>	<b>Tensão Máxima (MPa) Tracção 2</b>	<b>Tensão Máxima (MPa) Compressão 2</b>	<b>Tensão Máxima (MPa) Tracção 3</b>
<b>1</b>	4,2	3,0	3,7	3,3	3,6
<b>2</b>	4,6	3,4	4,1	3,8	4,1
<b>3</b>	5,0	3,8	4,6	4,1	4,5

Relativamente às tensões, houve sempre uma diminuição de tensão entre uma tracção e a compressão seguinte. Após cada compressão, a tensão máxima suportada na tracção seguinte foi superior à tensão inicial dessa compressão mas inferior à tensão máxima suportada na tracção anterior. Esta diferença de tensões entre tracções e compressões sucessivas é referido como sendo um dos fenómenos que caracteriza o efeito de Mullins [24], isto é, uma amostra que seja submetida a ciclos de histerese com um máximo fixo, evidencia uma diminuição da tensão máxima suportada com o número de ciclos.

Como já foi referido, as fibras constituídas por PCL originam um material muito dúctil e o que se verificou foi que mesmo depois das amostras terem sido submetidas a tracções intercaladas com compressões, as mesmas não quebraram no limite de tracção permitido pela máquina. Isto significa que era necessário um aparelho que permitisse um maior alongamento, para conseguir que as amostras alcançassem o seu limite de resistência e, como consequência, o seu ponto de ruptura.

Comparando as amostras de S6 e S15, conclui-se que o material originário de S15 é mais dúctil que o material de S6. Inicialmente, o objectivo de adicionar acetato de celulose à solução era para diminuir a ductilidade do material. Através dos testes mecânicos realizados a ambas as soluções conclui-se que, efectivamente, a adição deste biopolímero reduz a ductilidade das fibras. As fibras de PCL mostraram originar um material com boas propriedades mecânicas. No entanto, o facto de ele ser mais elástico que as fibras de PCL e acetato de celulose pode tornar-se num obstáculo à produção e utilização de fios deste material. Para analisar esta característica, foram posteriormente produzidos fios de ambas as soluções para serem utilizados em testes in vivo.

As principais conclusões retiradas dos testes de tracção foram:

- ✓ A solução S6 originou fibras com um Módulo de Young aproximadamente 11 MPa e uma tensão máxima 4,6 MPa.
- ✓ As soluções S8, S8-2, S9, S10 e S11 originaram fibras que, durante os testes de tracção, partiram por duas camadas.
- ✓ Quando sujeitas a ciclos de histerese, as amostras de S6 atingiram, na ultima tracção, tensões máximas semelhantes às obtidas com as amostras sujeitas apenas a uma tracção.

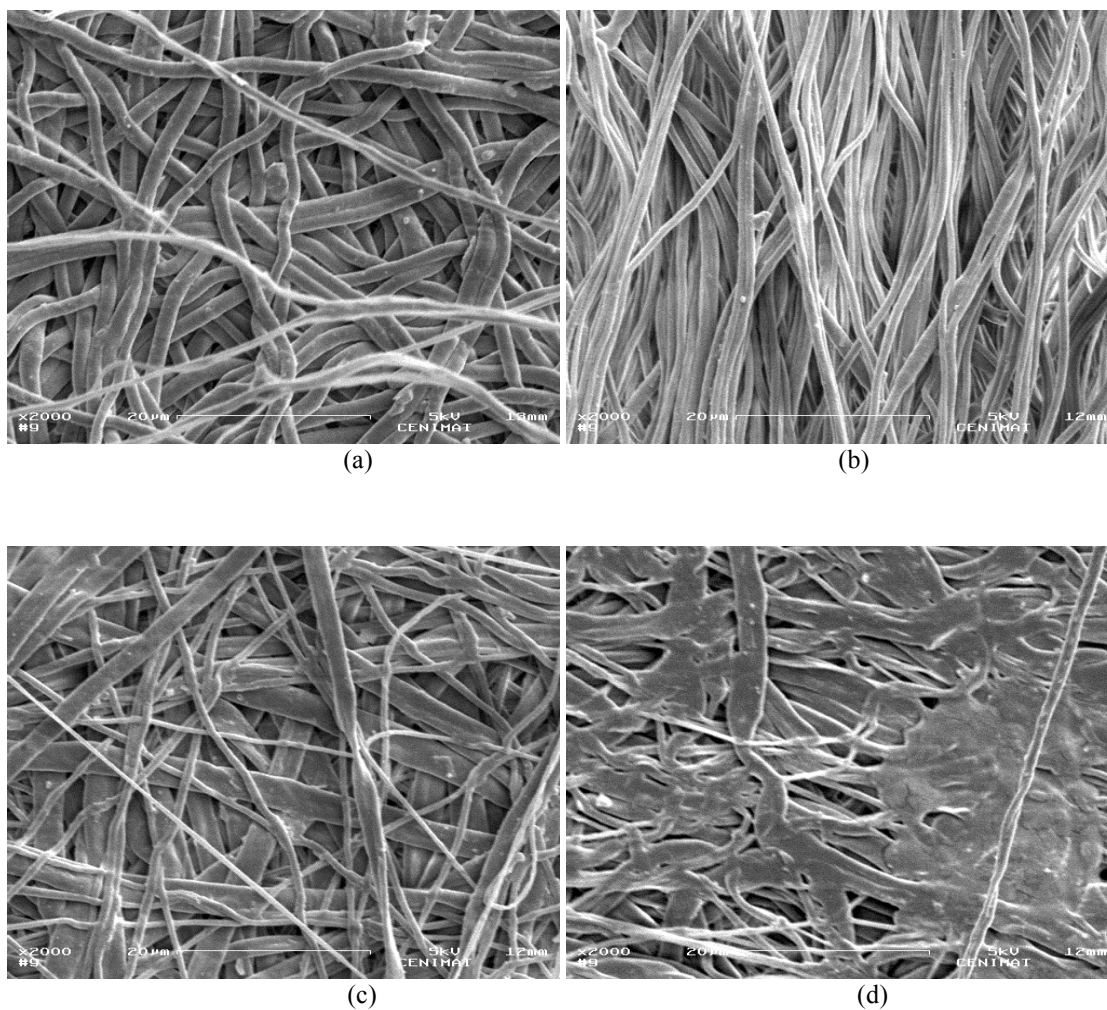
- ✓ As amostras de S15, após deformações cíclicas não atingiram os pontos de ruptura dentro dos limites permitidos pela máquina de tracção, após os ciclos de histerese.

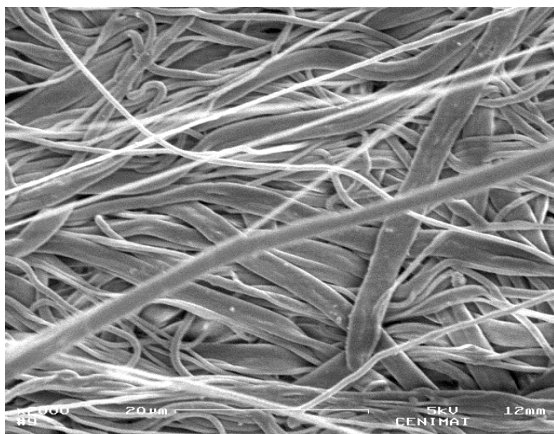
### 3.4 Microscopia Electrónica de Varrimento - 2

Foi utilizada uma amostra da solução S8-2 que foi previamente traccionada e separada em quatro fragmentos identificados e observados individualmente de modo a comparar as fibras nas diferentes zonas.

A observação das fibras no SEM permitiu analisar a qualidade das mesmas mas no entanto não foi possível determinar a origem do fenómeno invulgar observado nos testes de tracção.

Na Figura 3.17 encontram-se as imagens obtidas destes fragmentos.





(e)

Figura 3.17 - Imagens dos fragmentos da amostra de S8-2 observadas no SEM (a) A1; (b) B1 (c) A2; (d) B2; (e) B2-2

Durante o teste de tracção realizado a esta amostra verificou-se que a camada que partiu primeiro foi a camada 2, ou seja, a camada que estava junto ao alumínio quando houve a deposição da solução. Comparando as imagens da camada 1, observam-se as diferenças entre as fibras que foram traccionadas daquelas que ficaram presas nas garras da máquina de tracção. A imagem (b) mostra que as fibras foram esticadas durante o teste de tracção.

A imagem (d) corresponde ao fragmento B2, ou seja, o fragmento obtido da porção de amostra que foi traccionada e que partiu primeiro. Uma das hipóteses para justificar o facto das amostras desta solução partirem em duas camadas é o modo como as fibras estão dispostas. Ao observar esta imagem não vemos fibras distintas mas sim um aglomerado delas. Propôs-se a hipótese destas zonas de aglomerados serem as principais responsáveis pela ruptura parcial das amostras. No mesmo fragmento encontrou-se outra zona com fibras mais definidas e ligeiramente esticadas, imagem (e). As fibras observadas nesta imagem demonstram ser irregulares.

A análise destes fragmentos foi inconclusiva relativamente à origem da separação em camadas das amostras.

### 3.5 Difraccção de raios - X

Os gráficos obtidos na difracção de raios - x foram, posteriormente normalizados e encontram-se na Figura 3.18.

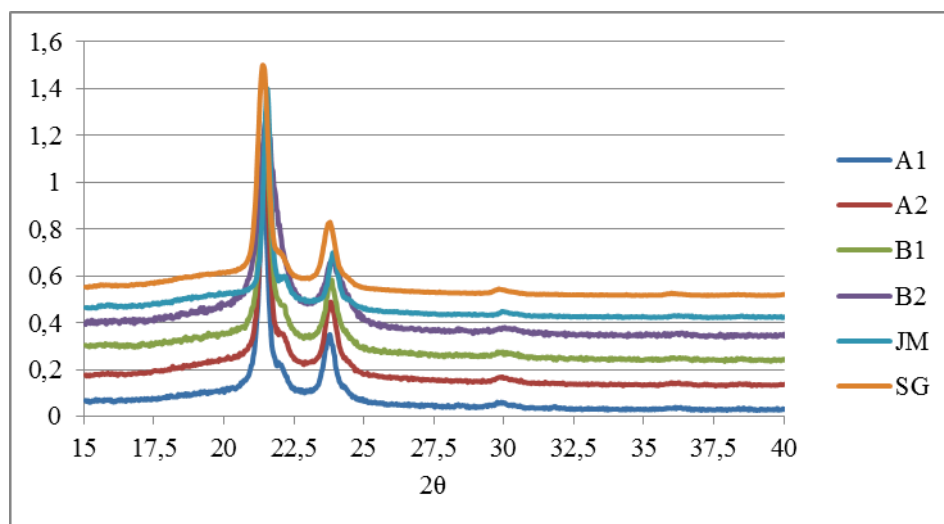


Figura 3.18 – Gráficos normalizados das amostras sujeitas à difracção de raios-x.

Ao observar o gráfico representado na Figura 3.18 verifica-se que o pico mais elevado corresponde a cerca de 21°. O segundo pico mais elevado encontra-se aproximadamente nos 23°. Estes dois picos são característicos dos planos cristalográficos do PCL.

A difracção dos raios-x teve como objectivo estudar o grau de cristalinidade das amostras. Na tabela seguinte estão resumidos os principais valores de cada amostra.

Tabela 3.15 - Valores característicos de cada amostra após os ajustes dos respectivos picos.

Amostra	Área 0	Área Total	%	FWHM	
				Pico 1	Pico 3
A1	4322,4	11049,46	61	0,34809	0,4965
A2	10241	21608,27	53	0,37089	0,5116
B1	2994,1	8826,77	66	0,408852	0,57274
B2	2047,2	8985,13	77	0,55467	0,89278
JM	9574,2	19397,53	51	0,27668	0,42393
SG	9589,3	45484,66	79	0,41293	0,53898

Os fragmentos B1 e B2 correspondem ao pedaço da amostra que foi traccionada. Nesta amostra designou-se como camada dois aquela que quebrou primeiro. Ao analisar os quatro fragmentos, constata-se que o fragmento B2 apresenta um grau de cristalinidade superior aos restantes fragmentos. Este dado indica-nos que este pedaço era mais rígido que os restantes e por esse motivo partiu primeiro durante o teste de tracção.

Esta análise esclarece o porquê da camada depositada primeiro partir primeiro, no entanto a explicação da origem das duas camadas continua inconclusiva.

Utilizando a fórmula de Scherrer, calculou-se o tamanho do cristalito de cada uma das amostras:

$$tc = \frac{989\lambda}{\beta \times \cos \theta}$$

Onde  $\theta$  corresponde ao ângulo do pico máximo e  $\beta$  representa a largura a meia altura do pico medido (FWHM).

Na fórmula de Scherrer quanto maior for a largura a meia altura menor é o tamanho do cristalito. Verificou-se que o fragmento B2 foi o que apresentou o tamanho de cristalito menor.

### 3.6 Produção de fios

Com o objectivo de transformar as deposições de nanofibras efectuadas em fios de sutura, experimentaram-se diversas formas de cortar as deposições em fios com a menor largura possível. Foram usados dois instrumentos de corte para obter fios com diferentes larguras: um x-ato comum e um x-ato de lâminas circulares. Para variar as larguras colocaram-se uma, duas ou três cartolinas entre as lâminas de modo a afastá-las. Foram cortados vários fios de cada deposição com cada um dos instrumentos. No total obtiveram-se fios com quatro larguras diferentes.

Foram medidas as dimensões (comprimento, espessura e largura) de cada um dos fios e procedeu-se ao seu alongamento. Os fios foram alongados manualmente porque a máquina de tracção tem um limite de 10 cm, e esta extensão é pequena para o procedimento de sutura nos testes *in vivo*. Seguidamente, os fios foram medidos de modo a caracterizar o fio e permitir a comparação com as dimensões originais.

As medidas dos fios produzidos encontram-se em anexo. Os valores de largura foram medidos através do programa ImageJ. Para tal, foram obtidas imagens dos fios através do microscópio óptico.

Ao comparar os valores iniciais e finais dos fios obtidos de S6 verificou-se que o comprimento aumentou para aproximadamente o dobro. Relativamente à espessura e largura finais constatou-se que, em média, os fios diminuíram aproximadamente metade.

Em relação aos fios obtidos de S15, verificou-se que em média o comprimento duplicou, no entanto, ao observar a Tabela 3.16 verifica-se que as amostras de S15, que foram utilizadas nos testes *in vivo*, não duplicaram o seu comprimento. A amostra 4 aumentou num factor de 1,5 enquanto a amostra 25 aumentou por um factor aproximadamente três. A espessura diminuiu para mais de metade do valor inicial enquanto a largura final não diminuiu tanto.



Embora o modo de alongamento dos fios tenha sido semelhante para todas as amostras, existem sempre diferenças durante o procedimento tal como a força aplicada.

De seguida, calcularam-se as respectivas áreas de secção recta utilizando a área de uma elipse, uma vez que quando observado ao microscópio óptico, a secção do fio assemelhou-se a uma elipse.

Foram calculadas as áreas para os vários calibres de suturas padrão de modo a comparar as áreas dos fios obtidos e determinar os calibres correspondentes.

Tabela 3.16 - Calibres das suturas não absorvíveis e absorvíveis sintéticas e respectivos diâmetros e áreas.

<b>Tamanho USP</b>		
<b>Suturas não Absorvíveis e Absorvíveis Sintéticas</b>	<b>Limites de diâmetros (mm)</b>	<b>Áreas (mm<sup>2</sup>)</b>
7-0	0,050-0,069	0,00196 - 0,00374
6-0	0,070-0,099	0,00385 - 0,00770
5-0	0,100-0,149	0,00785 - 0,01744
4-0	0,150-0,199	0,01767 - 0,03110
3-0	0,200-0,249	0,03142 - 0,04869
2-0	0,250-0,299	0,04909 - 0,07021

A maioria das amostras apresentaram calibres correspondentes a 5-0 e 4-0, exceptuando alguns casos cujas áreas correspondiam a calibres 3-0 e 6-0.

Para os testes *in vivo*, foram escolhidos no total quatro fios. Dois fios da solução S6 e dois fios de S15. Cada grupo de duas amostras era constituído por um fio de calibre 5-0 e outro fio de calibre 4-0. Para escolher os fios a serem utilizados nos testes *in vivo*, determinou-se quais as amostras que apresentaram valores de áreas de secção mais próximos do limite superior das áreas da Tabela 3.16.

As amostras escolhidas estão na Tabela 3.17.

Tabela 3.17 – Valores iniciais e finais dos fios escolhidos para os testes *in vivo*

<b>Solução</b>	<b>Amostra</b>	<b>Comprimento (cm)</b>		<b>Espessura (µm)</b>		<b>Largura (µm)</b>	
		<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>
<b>S6</b>	1	19,5	40,5	110	85	508	217
<b>S15</b>	4	19,5	32	83	40	580	454
<b>S6</b>	22	19,7	44	207	62	763	467
<b>S15</b>	25	14,4	39,5	423	73	1020	532

As respectivas áreas de secção encontram-se na Tabela 3.18, juntamente com o calibre definido.

Tabela 3.18 – Áreas das secções dos fios obtidos

Solução	Amostra	Área	Calibre
S6	1	0,01447	5-0
S15	4	0,01426	5-0
S6	22	0,02294	4-0
S15	25	0,03032	4-0

O passo seguinte na caracterização das amostras foi os testes *in vivo*.

### 3.7 Testes *in vivo*

Para os testes *in vivo* foram utilizados dois ratos da estirpe Wistar. Num rato foram aplicadas as suturas de calibre 4-0 e no outro as suturas calibre 5-0. Em cada um dos ratos foi feita uma terceira sutura de controlo utilizando um fio de sutura comercial, com calibre igual. Os fios utilizados nos testes não foram previamente esterilizados; no entanto tomaram-se as precauções anti-sépticas necessárias durante o procedimento cirúrgico. As amostras usadas nos testes *in vivo* não possuíam uma agulha própria pelo que foram experimentadas dois tipos de agulha: uma agulha com configuração semelhante às utilizadas actualmente e uma agulha de costura.

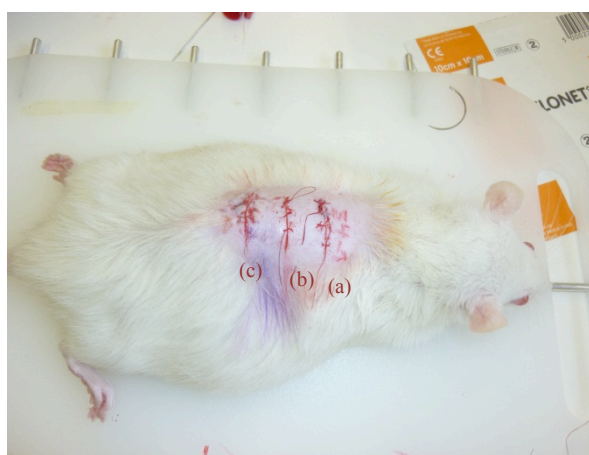


Figura 3.19 - Rato ST1, primeiro dia (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4

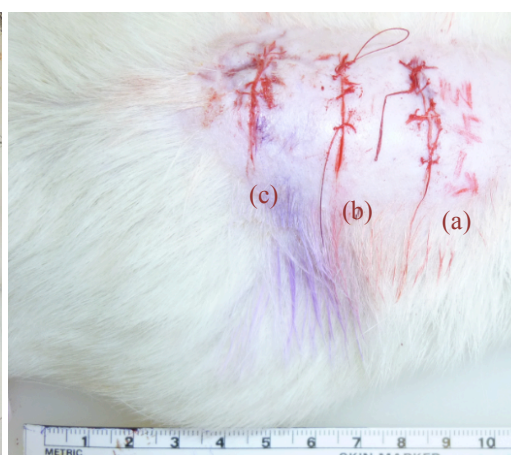


Figura 3.20 - Rato ST1, primeiro dia (zoom). (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4



No rato ST1 foram feitas três incisões transversais e aplicadas as suturas 1 e 4. A sutura de controlo utilizada neste rato foi Dexon “S” de calibre 5-0. No rato ST2 foram feitas três incisões longitudinalmente. A sutura de controlo utilizada neste rato foi Vicryl de calibre 4-0.

De modo a avaliar a reacção inflamatória e o nível de cicatrização foram realizadas observações ao fim de dois, sete, catorze e vinte dias.

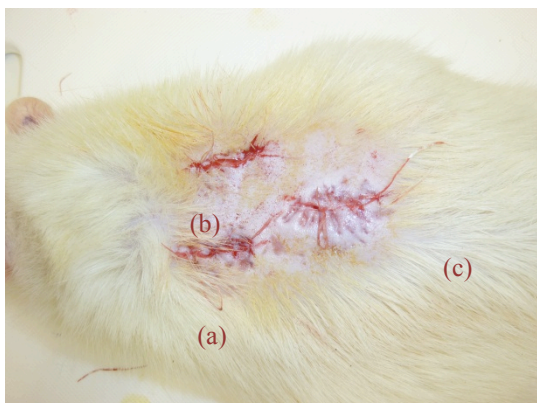


Figura 3.21 - Rato ST2, primeiro dia (a)  
Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25

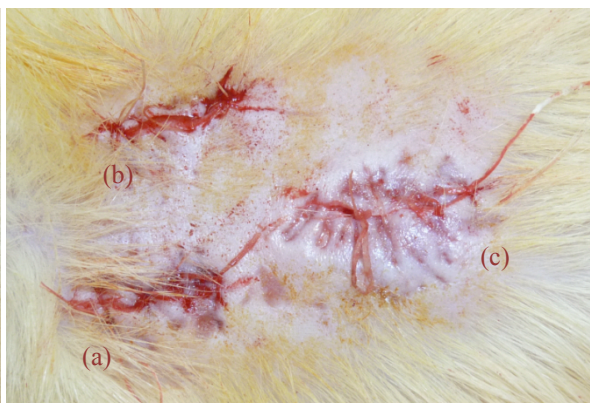


Figura 3.22 - Rato ST2, primeiro dia (zoom) (a)  
Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25

Os resultados obtidos ao fim de dois dias de implementação foram os seguintes:

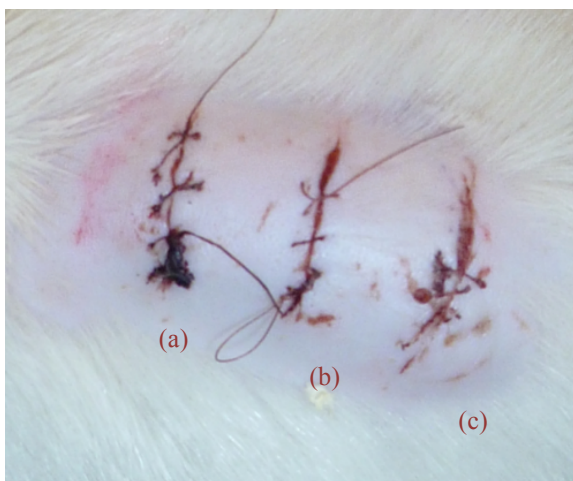


Figura 3.23 - Rato ST1, dois dias (a)  
Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4

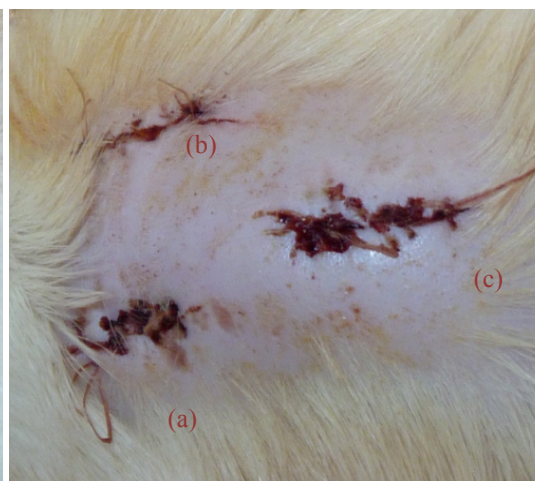


Figura 3.24 - Rato ST2, dois dias (a)  
Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25

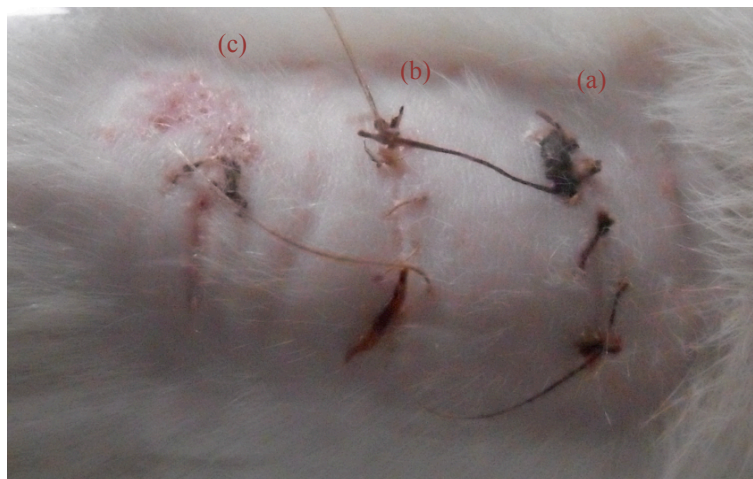


Figura 3.25 - Rato ST1, sete dias (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4



Figura 3.26 - Rato ST2, sete dias,  
Amostra 22



Figura 3.27 - Rato ST2, sete dias,  
Amostra Controlo

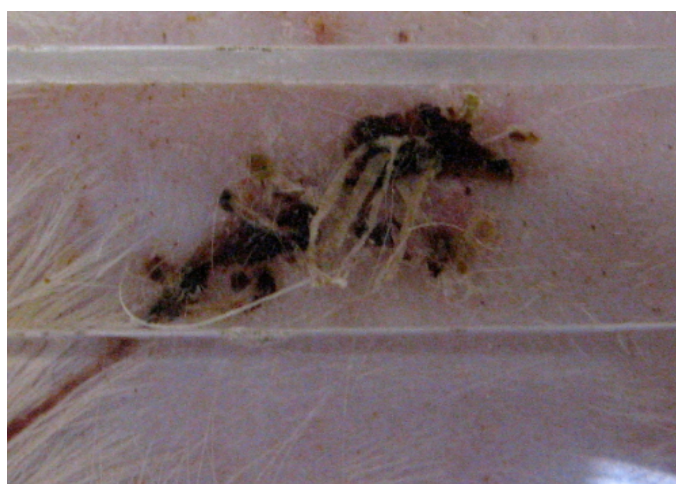


Figura 3.28 - Rato ST2, sete dias, Amostra 25



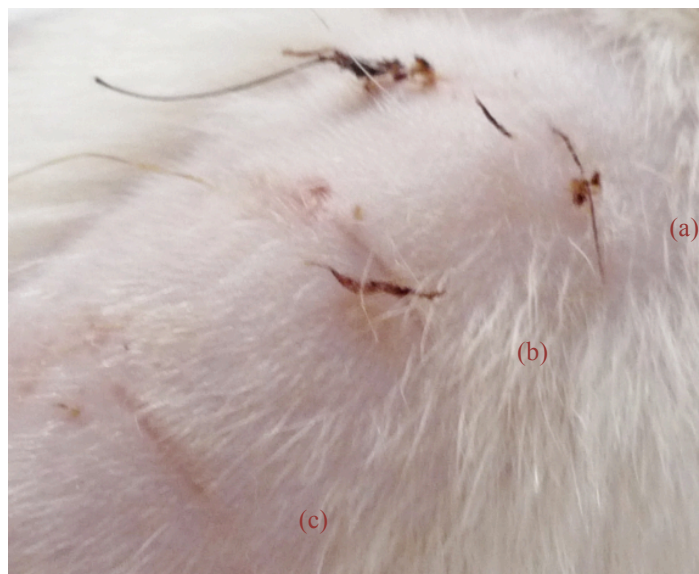


Figura 3.29 - Rato ST1, catorze dias (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4

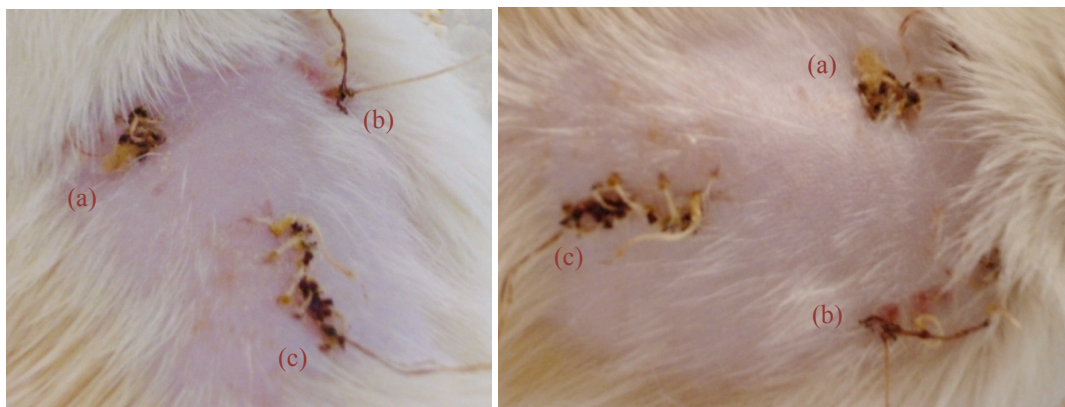


Figura 3.30 e 3.31- Rato ST2, catorze dias (a) Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25

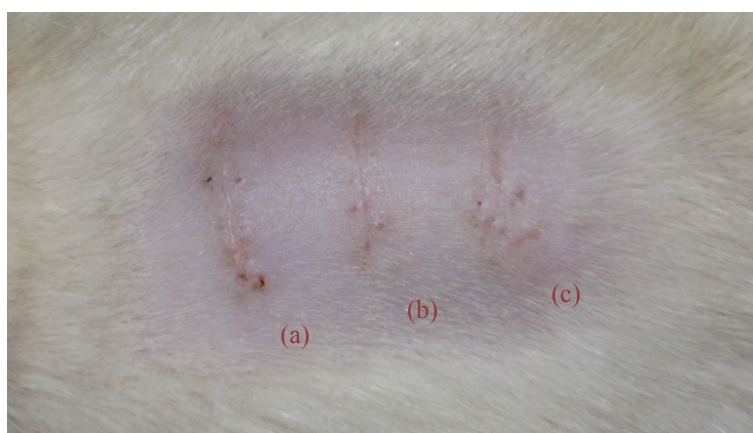


Figura 3.32 - Rato ST1, vinte dias (a) Amostra 1; (b) Controlo; (c) Amostra 4

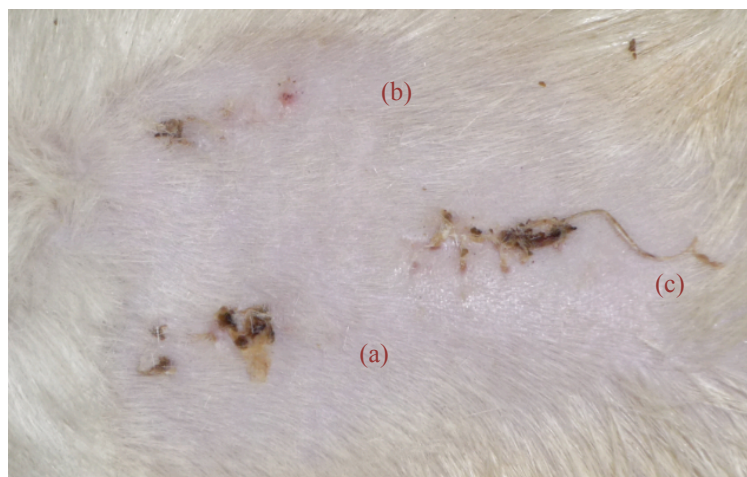


Figura 3.33 - Rato ST2, vinte dias (a) Amostra 22; (b) Controlo; (c) Amostra 25

Durante o procedimento cirúrgico, embora as condições de sutura não tenham sido as ideais, uma vez que os fios em estudo não possuíam agulhas próprias, os fios mostraram ser de fácil manuseamento, permitindo uma boa passagem nos tecidos.

Comparando as suturas dos ratos conclui-se que houve uma regeneração e uma cicatrização mais rápida dos tecidos do rato ST1. Isto deve-se ao facto de neste rato terem sido feitos cortes no sentido das linhas de menor tensão. Enquanto no rato ST1 foram feitas incisões no sentido das linhas de menor tensão, no rato ST2 foram feitas incisões no sentido das linhas de maior tensão. Este facto não só condicionou a escolha do calibre dos fios a serem utilizados como influenciou o tempo de regeneração dos tecidos.

Ao observar as incisões dos ratos, verifica-se que em ambos os ratos houve uma área bastante traumatizada. Esta área corresponde à zona onde foi realizado o procedimento, isto é, onde a agulha passou. Qualquer uma das agulhas utilizadas com os fios em estudo provocou um traumatismo notável. À medida que o tempo passou, o traumatismo foi diminuindo até ao seu desaparecimento, como era esperado.

A formação da crosta visível em ambos os ratos deveu-se essencialmente ao facto dos tecidos terem sido traumatizados durante o procedimento cirúrgico. Contudo, os tecidos pareceram reagir satisfatoriamente à introdução destes materiais.

Ao fim de dois dias, as suturas encontravam-se intactas, ou seja, não houve degradação visível das mesmas. No final de uma semana após o procedimento cirúrgico verificou-se que a regeneração dos tecidos do rato ST1 encontrava-se num estado mais avançado que o rato ST2. No entanto, ambos os ratos apresentaram uma boa evolução. Ao observar as suturas implementadas no rato ST1 verificou-se que parte do fio não se encontrava na pele. Perto da zona onde foi feita a incisão, observou-se um pedaço de pele um pouco avermelhada, o que sugeriu que o rato pode ter arrancado parte do fio.

Ao fim de catorze dias, os tecidos do rato ST1 mostraram estar completamente sarados a olho nu. O rato ST2 embora não apresentasse uma regeneração total das feridas, a sua evolução mostrou ser muito satisfatória. Ao fim de vinte dias não se observou vestígios quase nenhuns dos fios no exterior da pele. Nesta altura foram retirados amostras de tecido de cada uma das incisões para se proceder à análise histológica dos mesmos.

### 3.8 Análise Histológica

Para as análises histológicas foram feitas duas biópsias: ao fim de vinte dias e ao fim de 48 dias.

Os resultados obtidos foram os seguintes:

- **Rato ST1**

- 20 Dias, Amostra Controlo Dexon 5-0

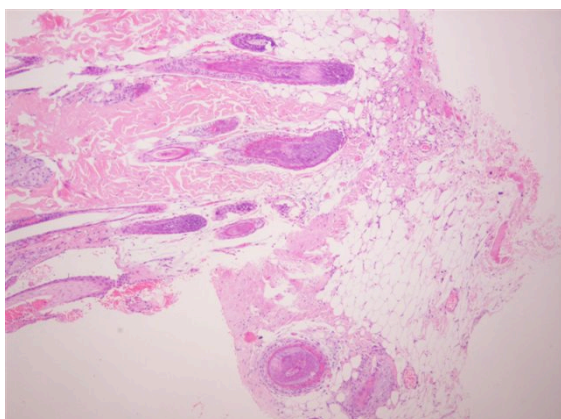


Figura 3.34 – Amostra Controlo, (Objectiva 4x)

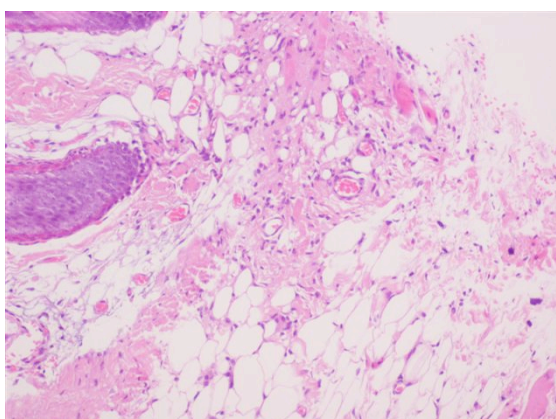


Figura 3.35 – Amostra Controlo, (Objectiva 10x)

Nas imagens acima representadas encontram-se os resultados da sutura de controlo utilizada no rato ST1. Nestes cortes histológicos não é visível o material da sutura, apenas se observa um pequeno processo inflamatório ao nível da hipoderme, o que é típico de uma reacção de corpo estranho. Este facto indicia que o fio de sutura atravessou aquele local.



➤ 48 Dias, Amostra Controlo Dexon 5-0

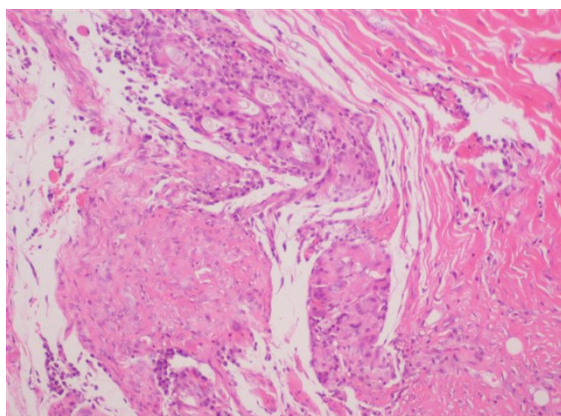


Figura 3.36 – Amostra Controlo, (Objectiva 10x)

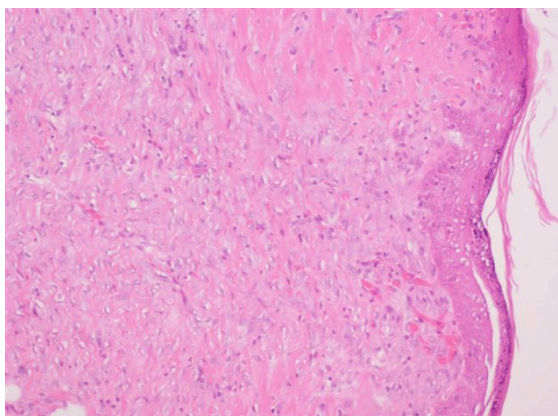


Figura 3.37 – Amostra Controlo, (Objectiva 10x)

Através das imagens das Figuras 3.36 e 3.37 observa-se que o tecido que foi atravessado pela sutura continua em remodelação uma vez que é visível um tecido fibroso, com maior densidade de células e feixes de colagénio menos organizados, na zona onde foi efectuada a incisão.

➤ 20 Dias, PCL e Acetato de Celulose 5-0

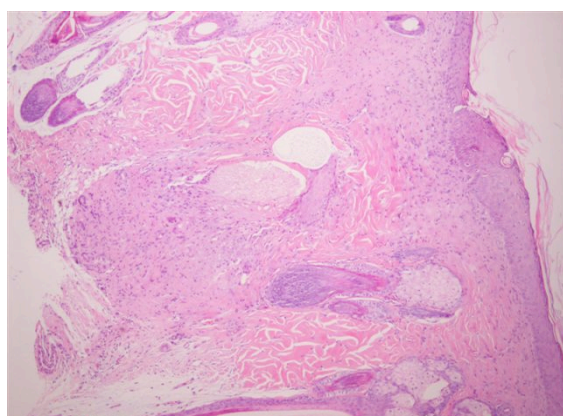


Figura 3.38 – Amostra 1, (Objectiva 4x)

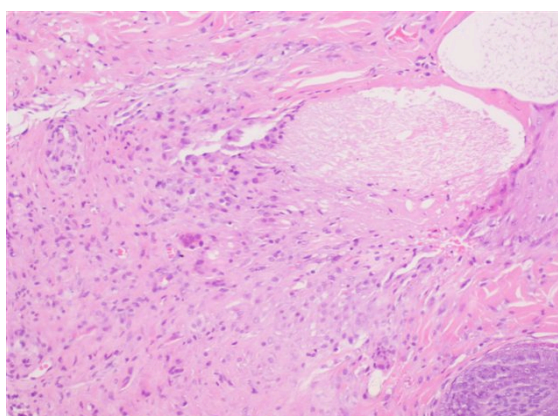


Figura 3.39 – Amostra 1, (Objectiva 10x)

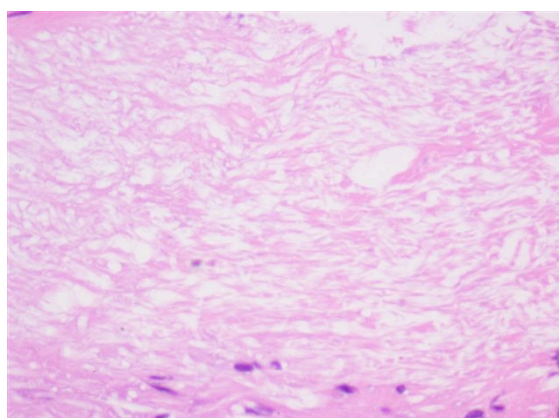


Figura 3.40 – Amostra 1, (Objectiva 40x)

Nestes cortes observa-se uma reacção inflamatória ligeira e o material de sutura envolto por tecido fibroso.

➤ 48 Dias, PCL e Acetato de Celulose 5-0

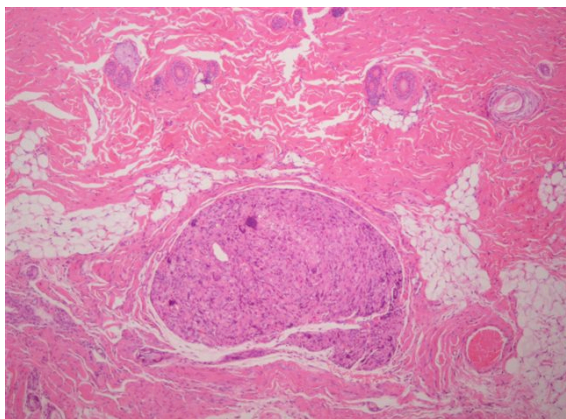


Figura 3.41 – Amostra 1, (Objectiva 4x)

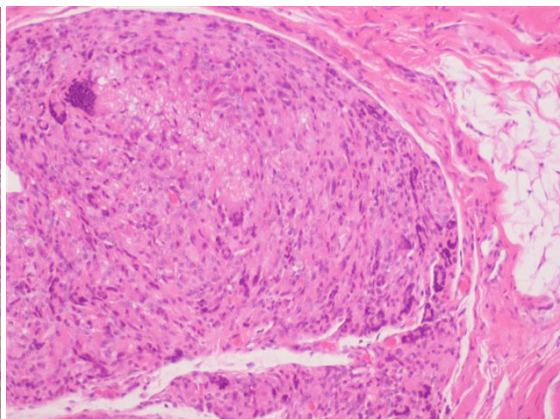


Figura 3.42 – Amostra 1, (Objectiva 10x)

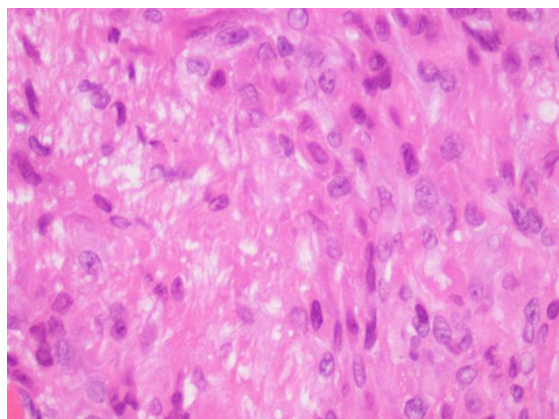


Figura 3.43 – Amostra 1, (Objectiva 40x)

Ao fim de 48 dias verificou-se que a zona que foi atravessada pelo fio encontra-se em remodelação sendo ainda possível observar alguns vestígios do material de sutura.



➤ 20 Dias, PCL 5-0

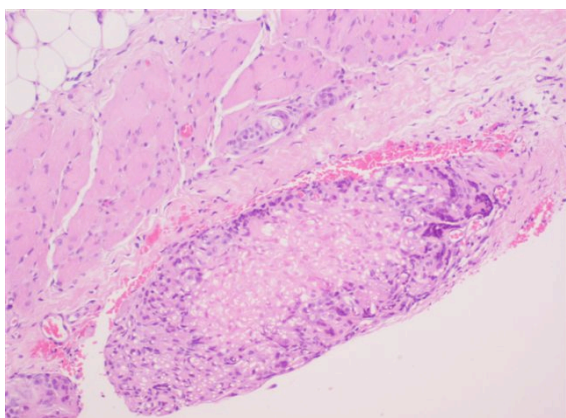


Figura 3.44 – Amostra 4, (Objectiva 10x)

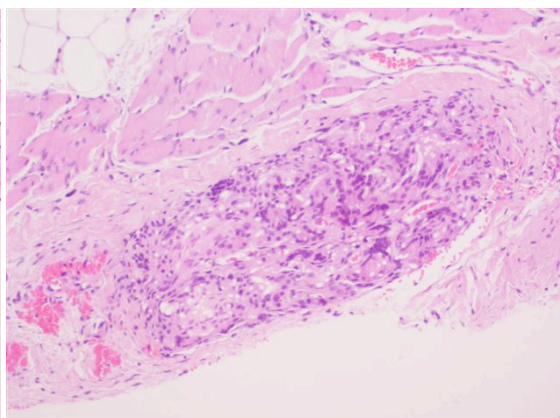


Figura 3.45 – Amostra 4, (Objectiva 10x)

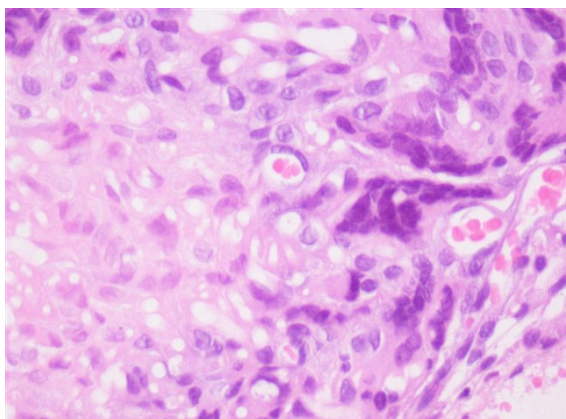


Figura 3.46 – Amostra 4, (Objectiva 40x)

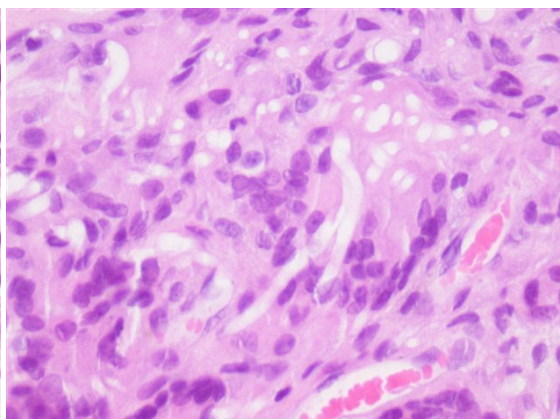


Figura 3.47 – Amostra 4, (Objectiva 40x)

Nestas imagens observa-se distintamente a zona correspondente ao fio de sutura constituído por PCL, que está invadido por fibroblastos e macrófagos. Observam-se também algumas células multinucleadas gigantes e vasos sanguíneos capilares.

➤ 48 Dias, PCL 5-0

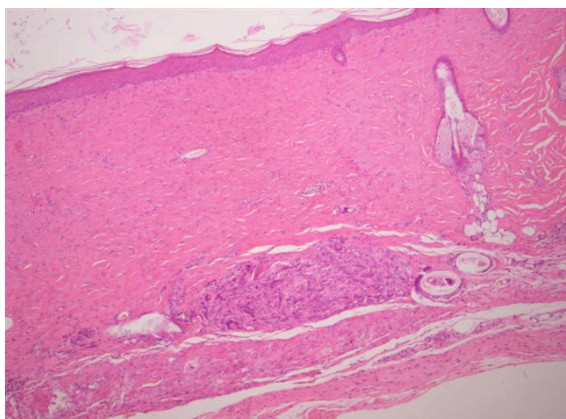


Figura 3.48 – Amostra 4, (Objectiva 4x)

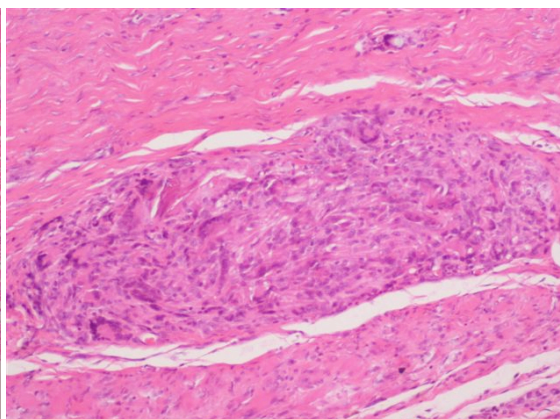


Figura 3.49 – Amostra 4, (Objectiva 10x)



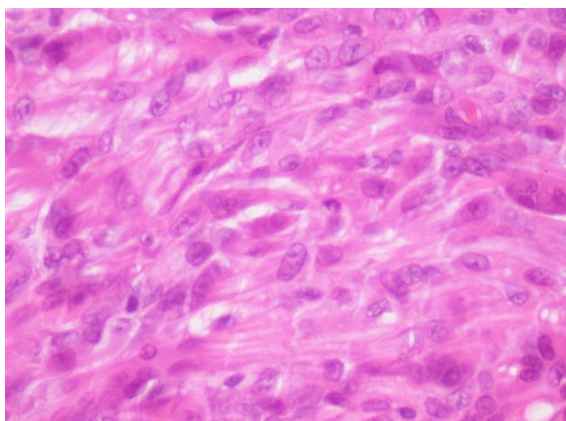


Figura 3.50 – Amostra 4, (Objectiva 40x)

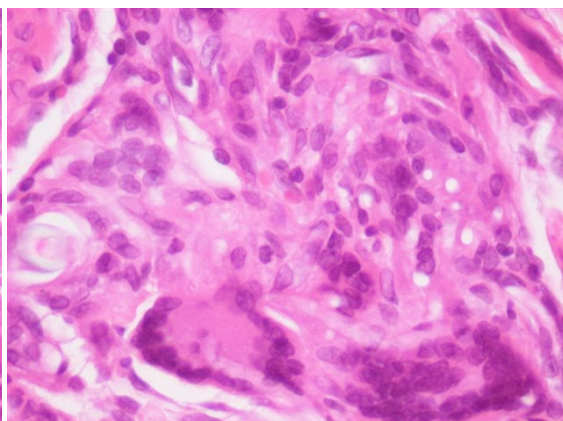


Figura 3.51 – Amostra 4, (Objectiva 40x)

Os resultados da segunda biópsia mostram a presença de uma intensa actividade de remodelação e reabsorção do material de sutura que já foi praticamente todo reabsorvido. Observa-se também na zona da incisão um tecido fibroso em remodelação.

- **Rato ST2**

- 20 Dias, Amostra Controlo Vicryl 4-0

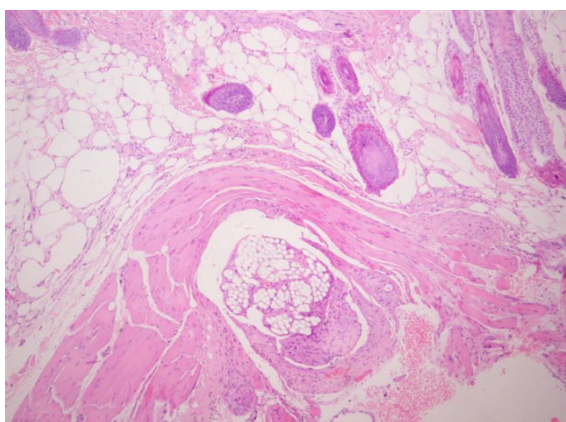


Figura 3.52 – Amostra Controlo, (Objectiva 4x)

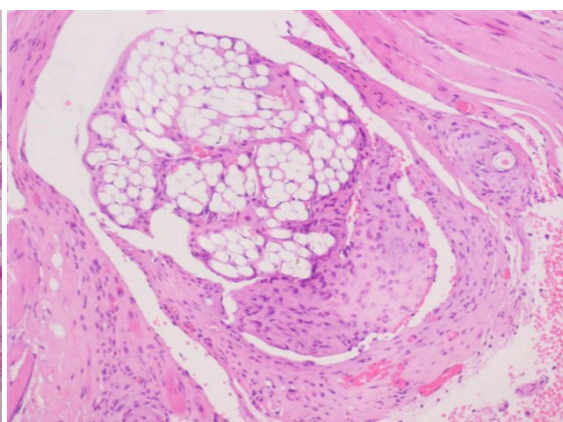


Figura 3.53 – Amostra Controlo, (Objectiva 10x)

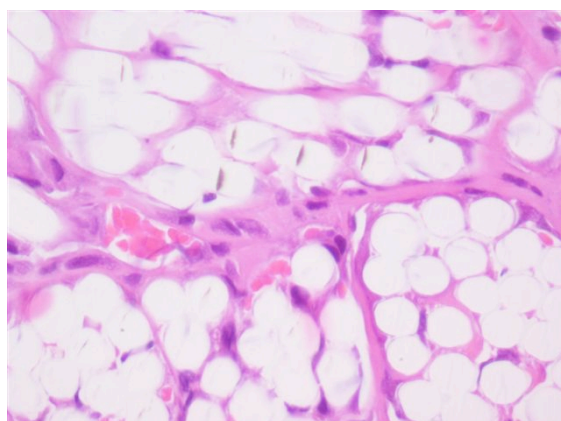


Figura 3.54 – Amostra Controlo, (Objectiva 40x)

No rato ST2, as imagens resultantes da primeira biópsia apresentam o fio de sutura, multifilamentar, a atravessar o tecido muscular estriado e envolto por uma manga fibrótica, típica da reacção de corpo estranho.

➤ 48 Dias, Amostra Controlo Vicryl 4-0

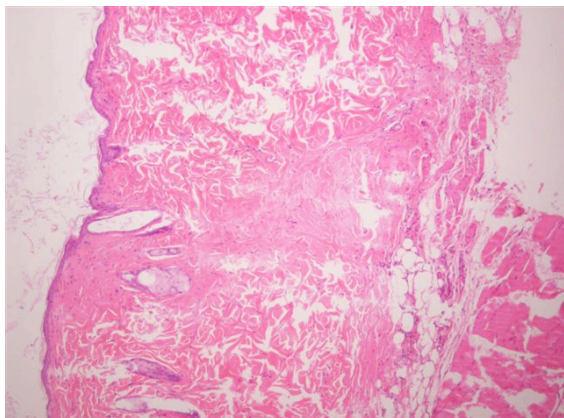


Figura 3.55 – Amostra Controlo, (Objectiva 4x)

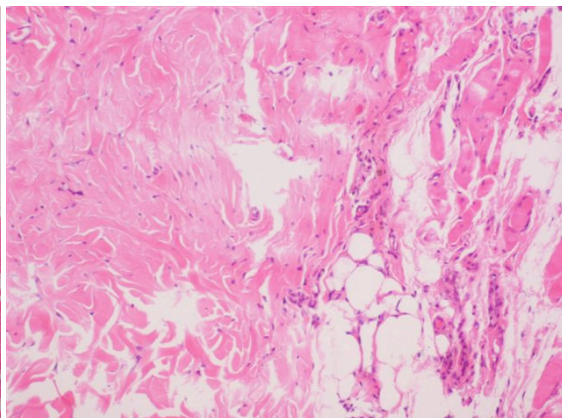


Figura 3.56 – Amostra Controlo, (Objectiva 10x)

Ao fim de 48 dias, o fio de sutura já não é visível, observando-se apenas tecido fibroso na zona da incisão.

➤ 20 Dias, PCL e Acetato de Celulose 4-0

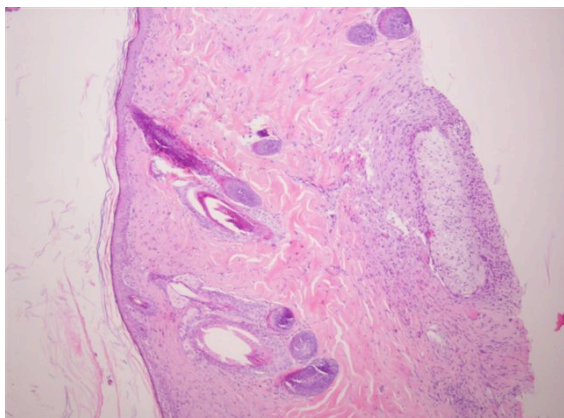


Figura 3.57 – Amostra 22, (Objectiva 4x)

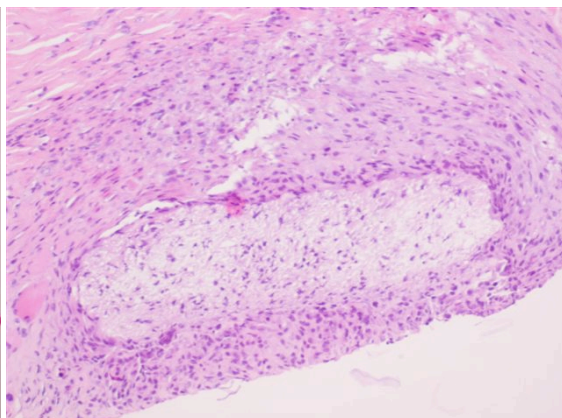


Figura 3.58 – Amostra 22, (Objectiva 10x)



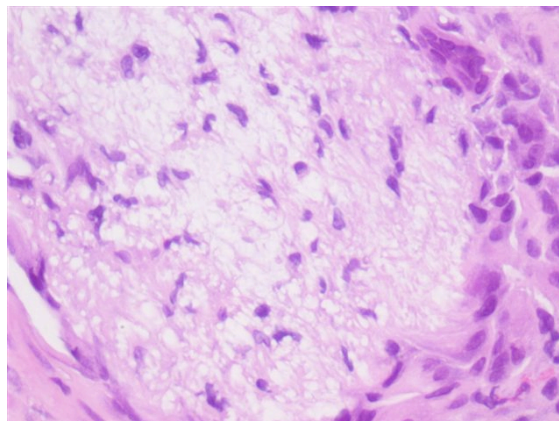


Figura 3.59 – Amostra 22, (Objectiva 40x)

Os resultados da primeira biópsia ao tecido que continha o fio de PCL e acetato de celulose mostram apenas uma reacção inflamatória ligeira e a formação de um granuloma de corpo estranho.

➤ 48 Dias, PCL e Acetato de Celulose 4-0

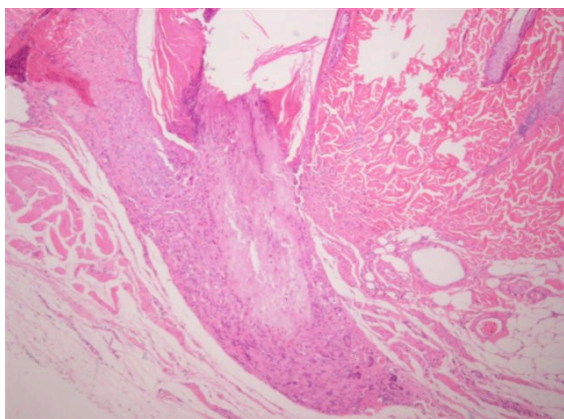


Figura 3.60 – Amostra 22, (Objectiva 4x)

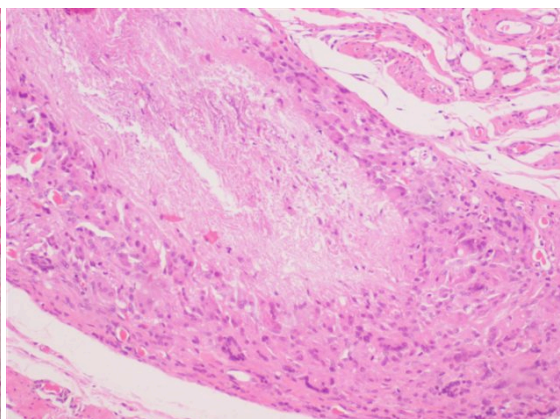


Figura 3.61 – Amostra 22, (Objectiva 10x)

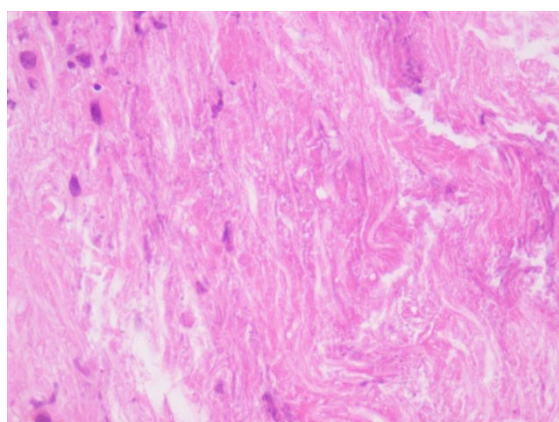


Figura 3.62 – Amostra 22, (Objectiva 40x)

Ao fim de 48 dias verifica-se que a remodelação do tecido prossegue através da acção fagocitária dos macrófagos e da síntese de nova matriz pelos fibroblastos. São também visíveis alguns capilares e eritrócitos no volume da sutura.

➤ 20 Dias, PCL 4-0

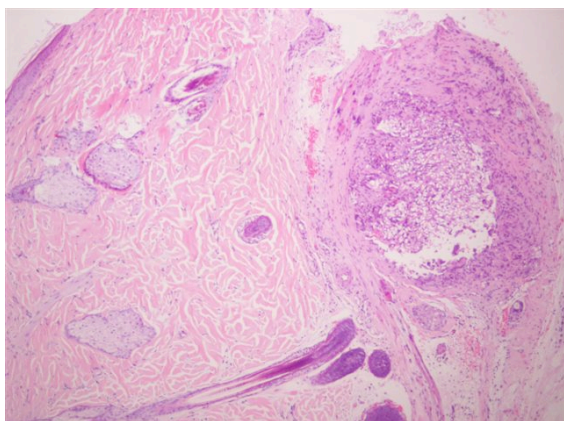


Figura 3.63 – Amostra 25, (Objectiva 4x)

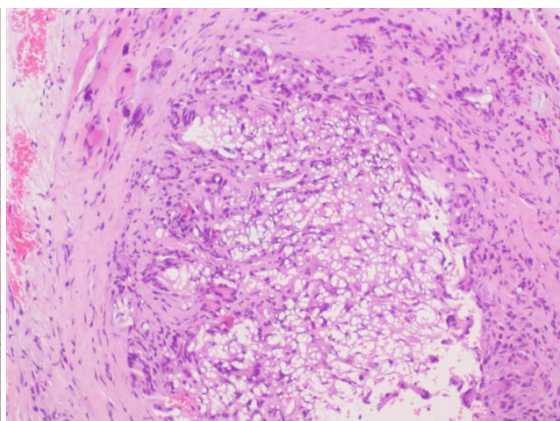


Figura 3.64 – Amostra 25, (Objectiva 10x)

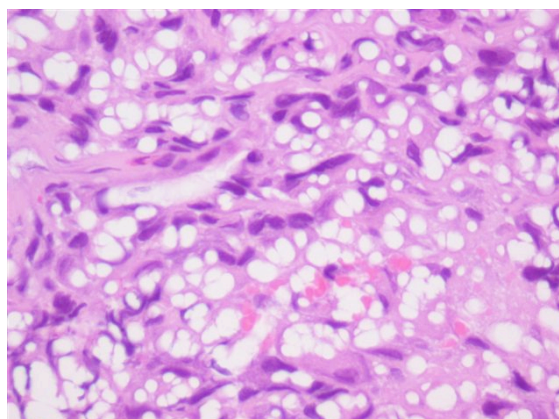


Figura 3.65 – Amostra 25, (Objectiva 40x)

O corte histológico da amostra de PCL no rato ST2 revela um granuloma de corpo estranho em torno da sutura e tecido fibrótico na zona da incisão. Nestas imagens, são bem visíveis as fibras da sutura, vasos capilares e uma abundante população de fibroblastos e macrófagos.

➤ 48 Dias, PCL 4-0

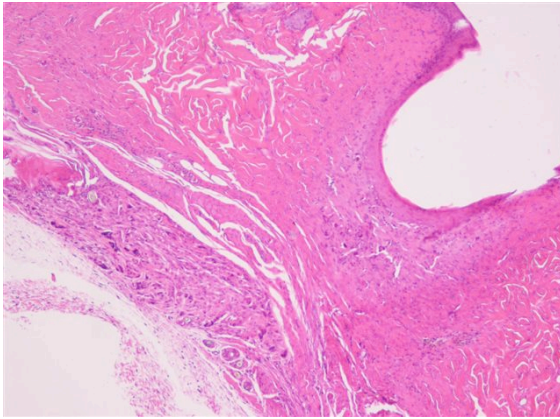


Figura 3.66 – Amostra 25, (Objectiva 4x)

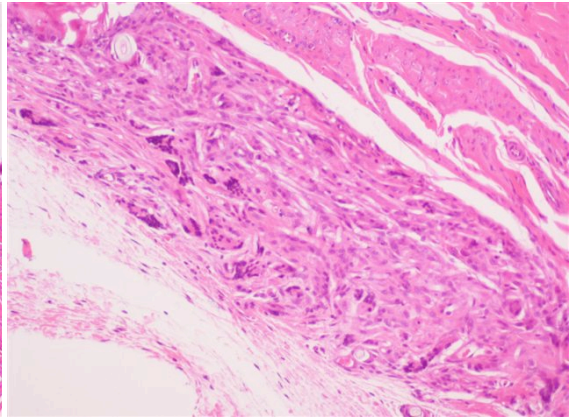


Figura 3.67 – Amostra 25, (Objectiva 10x)

Ao fim de 48 dias observa-se o processo inflamatório ainda em curso, com o objectivo de reabsorver o material da sutura, já menos visível que aos 20 dias, e de produção de matriz. São também visíveis algumas células multinucleadas gigantes.





# Capítulo 4

## Conclusão

O objectivo do trabalho foi desenvolver uma nova sutura à base de polímeros biodegradáveis, utilizando como técnica de produção a electrofiação.

A electrofiação é um método de produzir nanofibras fácil e económico. Pretendeu-se determinar a configuração do sistema de deposição de nanofibras ideal para o objectivo do trabalho. Para a deposição destas fibras foi usado um colector metálico quadrado comum revestido por papel de alumínio.

Inicialmente foram estudadas quatro soluções constituídas por uma mistura de clorofórmio e acetona. Os polímeros utilizados foram PCL e acetato de celulose. Esta mistura de solventes não permitiu fiar as respectivas soluções uma vez que se observou sempre a formação de gota na ponta da agulha. O aparecimento da gota ocorreu devido a uma evaporação muito rápida do solvente. Experimentou-se substituir a acetona por N, N – dimetilacetamida (DMAc).

As soluções constituídas pela mistura clorofórmio e DMAc apresentaram não só melhores condições de fiação como as fibras obtidas foram uniformes. Variaram-se as concentrações de acetato de celulose bem como as concentrações de clorofórmio e DMAc. As soluções que apresentaram melhores resultados foram as soluções S6, S8, S9, S10 e S11. Todas estas soluções tinham em comum as concentrações de clorofórmio, DMAc e PCL. O acetato de celulose foi adicionado às soluções de modo a diminuir a elasticidade das fibras.

De modo a caracterizar as fibras obtidas, foram observadas no Microscópio Electrónico de Varrimento amostras das soluções S6, S8, S9, S10 e S11. As soluções que apresentaram fibras mais uniformes e regulares foram S6 e S8, apresentando diâmetros entre 700 e 1000  $\mu\text{m}$ .

Posteriormente foram realizados testes de tracção às amostras destas cinco soluções. Durante estes testes observou-se um fenómeno estranho: as amostras das soluções S8, S9, S10 e S11 separaram-se em duas camadas. Da solução S8 foram feitas duas outras soluções semelhantes, denominadas S8-2 e S8-3. Com a solução S8-2 repetiu-se exactamente o mesmo processo de S8 e nos testes de tracção observou-se o mesmo fenómeno de separação em duas camadas. Para estudar a influência do tempo de deposição experimentou-se depositar a solução S8-3 durante dez horas, metade do tempo de deposição usado nas restantes soluções. Nos testes

de tracção as amostras não se separaram em duas camadas. Das quatro amostras sujeitas à tracção apenas uma se partiu totalmente, sem se separar por camadas. Embora se tenha concluído que o tempo de deposição afecta a qualidade do material, a razão da separação por camadas não foi explicada. Para tentar compreender a origem deste fenómeno foram observados quatro fragmentos de uma amostra previamente traccionada. Não se chegou a nenhuma conclusão quanto à sua origem.

Sujeitaram-se à difracção por raios-x os mesmos quatro fragmentos e concluiu-se que a camada que partiu primeiro durante o teste de tracção apresentou um grau de cristalinidade maior, o que significa que é constituído por um material mais rígido que os restantes fragmentos. A origem da separação em duas camadas das amostras não ficou esclarecida.

Para além da solução S6, composta por PCL 15%, acetato de celulose 0,6% em clorofórmio:DMAc 60:40, foi produzida uma solução composta por PCL 15% em clorofórmio 100% (S15). De seguida, sujeitou-se amostras de S6 e S15 a testes de tracção e re-tracção. O objectivo destes testes foi compreender o comportamento das fibras após deformações cíclicas. As amostras compostas somente por PCL mantiveram-se inteiras após três deformações sucessivas, isto é, não chegaram a partir dentro dos limites do aparelho de tracção. Relativamente às amostras constituídas por PCL e acetato de celulose, depois de submetidas a deformações cíclicas romperam a uma tensão semelhante àquela alcançada pelas amostras sujeitas a uma única tracção.

Depois de determinadas as propriedades mecânicas das fibras, passou-se à produção de fios. Nesta fase utilizaram-se dois instrumentos de corte de modo a obter fios com diferentes larguras. Estes fios foram, posteriormente, alongados manualmente. Depois de medidas as dimensões finais dos fios, determinou-se que se obteve fios com calibres correspondentes a 5-0 e 4-0, segundo a Pharmacopeia dos Estados Unidos.

Nos testes *in vivo* utilizaram-se dois ratos da estirpe Wistar. As suturas de calibre 5-0 foram utilizadas no rato ST1, onde foram realizados cortes segundo as linhas de menor tensão e as suturas de calibre 4-0 foram utilizadas no rato ST2, onde foram realizados cortes segundo as linhas de maior tensão. Foi feita ainda uma outra sutura para controlo utilizando um fio comercial, em cada um dos ratos com calibre igual. Durante o procedimento cirúrgico concluiu-se que os fios produzidos eram fáceis de manusear permitindo uma boa passagem através dos tecidos. Os ratos foram observados ao fim de dois, sete, catorze e vinte dias para acompanhar a evolução da regeneração e cicatrização dos tecidos. A evolução dos tecidos foi bastante satisfatória uma vez que no fim dos vinte dias os tecidos apresentaram uma boa aparência.



# Bibliografia

- [1] Mackenzie D. *The History of Sutures*. Med Hist 1973;17:158-68.
- [2] Swicofil, disponível em <http://www.swicofil.com/sutures.html>
- [3] Clifford W. Lober, M.D., FACP and Neil A. Fenske, M.D., FACP. *Suture Materials for Closing the Skin and Subcutaneous Tissues*. Aesth. Plast. Surg. 10:245-247,1986.
- [4] Kudur MH, Pai SB, Sripathi H, Prabhu S. *Sutures and Suturing Techniques in Skin Closure*. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2009;75:425-34.
- [5] Suture Manual by Resorba, disponível em [www.cpmpharma.pt/resorba/suture\\_manual.pdf](http://www.cpmpharma.pt/resorba/suture_manual.pdf).
- [6] DemeTech, disponível em <http://www.demetech.us/sutures.php>.
- [7] United States Pharmacopeia Monographs: Absorbable Surgical Suture, disponível em [http://pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_m80190.html](http://pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m80190.html).
- [8] Postlethwait R.W., Willigan D.A., Alex W., *Human Tissue Reaction to Sutures*. Ann Surg. 1975 February; 181(2): 144–150.
- [9] Samson, G. (2009). *Reinforcing Effect of a Cyanoacrylate Adhesive on Surgical Suture Knots*. Raleigh, North Carolina: Graduate Faculty of North Carolina State University.
- [10] Eldich, R.F. & Long, W. B (2008). *Surgical Knot Tying Manual*. CT (USA): COVIDIEN.
- [11] Bhardwaj N., Kundu S.C. *A Fascinating fiber Fabrication Technique*. Biotechnology Advances 2010; 28:325-347.
- [12] Li D., Xia Y., *Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel?* Adv. Mater. 2004; 16:1151-1170.
- [13] Pham Q.P., Sharma U., Mikos A. G., *Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review*. Tissue Eng. 2006; 12(5): 1197-211.
- [14] Greiner A., Wendorff J. H., *Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers*. Angew. Chem. Int. Ed. 2007; 46: 5670-5703.
- [15] Gomes S., Anacleto P., Henriques C., Borges J.P., Silva J.C., *Electrospinning poly( $\epsilon$ -caprolactone) from acetic acid solutions for tissue engineering applications*.
- [16] Saltzman, W. M. (2004). *Tissue Engineering: Engineering Principles for the Design of Replacement Organs and Tissues*. Oxford: Oxford University Press.
- [17] Blitterswijk C. (Ed). (2008). *Tissue Engineering*. (1<sup>a</sup> ed.) Elsevier.

- [18] Polycaprolactona, disponível em <http://www.absoluteastronomy.com/topics/Polycaprolactona>
- [19] Acetato de Celulose, disponível em [http://www.newworldencyclopedia.org/entry/cellulose\\_acetate](http://www.newworldencyclopedia.org/entry/cellulose_acetate).
- [20] Clorofórmio, disponível em [http://www.infopedia.pt/\\$cloroformio](http://www.infopedia.pt/$cloroformio)
- [21] OECD SIDS, 2001
- [22] Disponível em <http://www.sigmaaldrich.com/portugal.html>
- [23] Tungprapa S., Puangparm T., Weerasombut M., Jangchud I., Fakum P., Semongkhon S., Meechaisue C., Supaphol P., *Electrospun cellulose acetate fibers: effect of solvent system on morphology and fiber diameter*. Cellulose (2007) 14:563-575.
- [24] Drozdov A. D., *Mullins' effect in semicrystalline polymers*. International Journal of Solids and Structures 46 (2009) 3336-3345.

# Anexos

## Anexo I – Testes de Tracção e Compressão

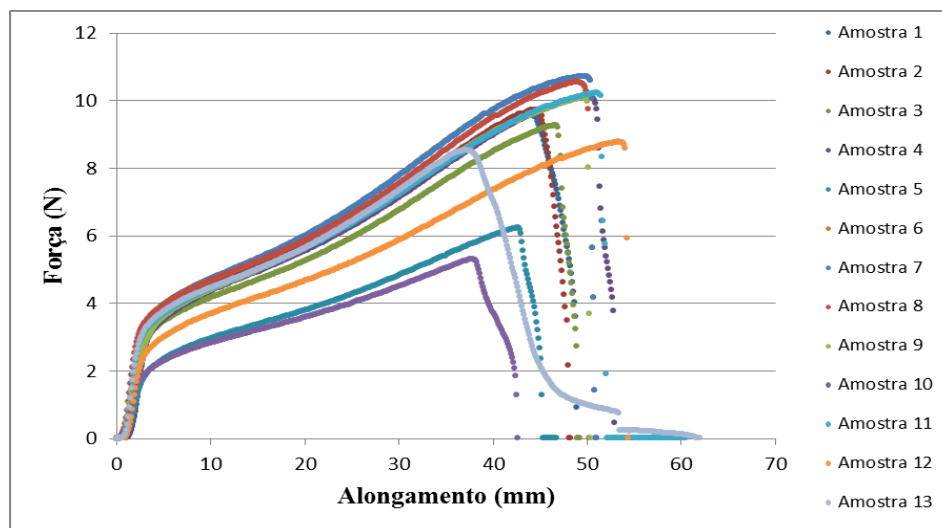


Figura A.1 - Força *versus* Alongamento das amostras de S6 traccionadas até à ruptura

Tabela A.1 - Valores das amostras de S6 traccionadas até à ruptura.

Amostra	Espessura Inicial (mm)	Alongamento Máximo (mm)	Força Máxima (N)	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
1	0,233	44	9,6	4,2	4,1	8,9
2	0,203	44	9,7	4,2	4,8	11,0
3	0,190	47	9,3	4,4	4,9	12,0
4	0,213	50	10,2	5,0	4,8	9,7
5	0,153	43	6,2	4,2	4,1	8,7
6	0,217	50	10,7	4,8	4,9	11,0
7	0,123	33	5,5	3,1	4,4	13,0
8	0,210	49	10,6	4,3	5,0	12,0
9	0,217	49	10,1	4,5	4,6	7,9
10	0,130	38	5,3	3,5	4,1	9,8
11	0,207	51	10,2	4,7	4,9	12,0
12	0,183	53	8,8	5,1	4,8	10,0
13	0,177	37	8,5	3,6	4,8	14,0

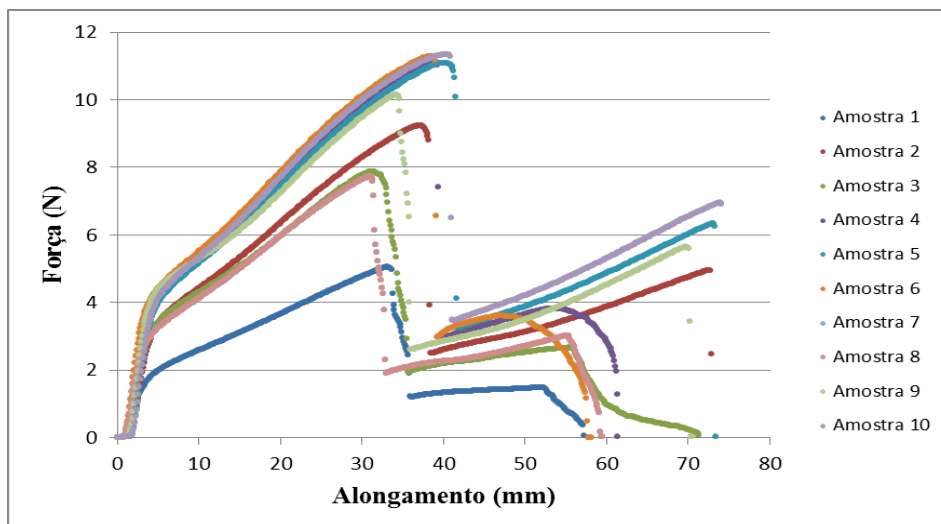


Figura A.2 - Força *versus* Alongamento das amostras de S8 traccionadas até à ruptura.

Tabela A.2 - Valores das amostras de S8 traccionadas até à ruptura.

Amostra	Espessura inicial (mm)	Alongamento máximo (mm)	Força máxima (N)	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
1	0,187	33	5,0	2,7	2,7	4,8
2	0,297	37	9,2	3,5	3,1	5,1
3	0,217	31	7,9	2,8	3,6	7,6
4	0,297	39	11,0	3,6	3,7	6,7
5	0,327	40	11,0	3,9	3,4	5,6
6	0,320	38	11,0	3,6	3,5	6,6
7	0,273	31	7,7	3,0	2,8	5,6
8	0,280	33	8,4	3,3	3,0	5,7
9	0,243	34	10,0	3,1	4,2	9,7
10	0,330	40	11,0	4,0	3,4	5,9

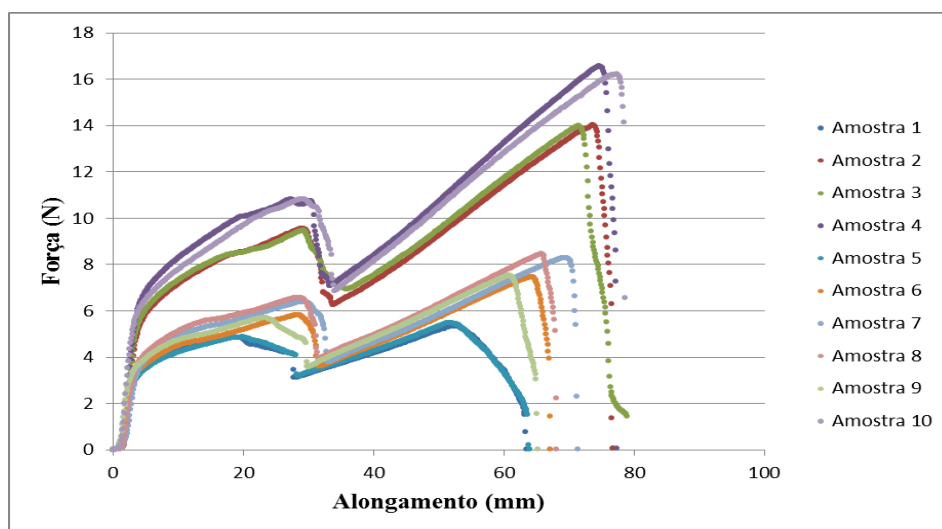


Figura A.3 - Força *versus* Alongamento das amostras de S8-2 traccionadas até à ruptura.

Tabela A.3 - Valores das amostras de S8-2 traccionadas até à ruptura.

Amostra	Espessura Inicial (mm)	Alongamento Máximo (mm)	Força Máxima (N)	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
1	0,243	52	5,3	4,8	2,2	8,5
2	0,377	74	14	7,2	3,7	8,6
3	0,320	72	14	7,0	4,4	9,8
4	0,367	75	17	7,4	4,5	9,1
5	0,260	52	5,5	4,8	2,1	7,6
6	0,260	64	7,5	6,3	2,9	8,7
7	0,290	70	8,3	6,9	2,9	7,2
8	0,267	66	8,5	6,5	3,2	8,6
9	0,267	61	7,5	6,3	2,8	8,5
10	0,387	77	16	7,9	4,2	9,0

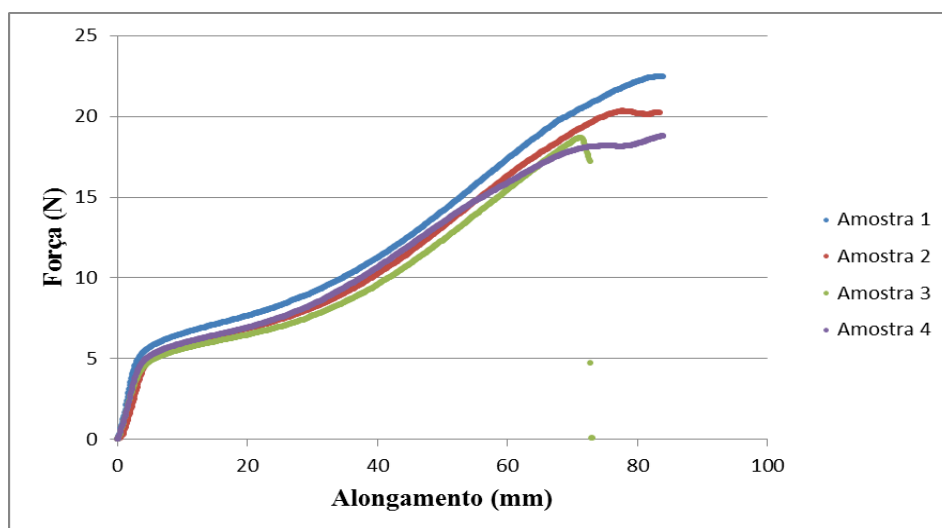


Figura A.4 - Força versus Alongamento das amostras de S8-3 traccionadas até à ruptura.

Tabela A.4 - Valores das amostras de S8-3 traccionadas até à ruptura.

Amostra	Espessura inicial (mm)	Alongamento Máximo (mm)	Força máxima (N)	Extensão Máxima	Tensão à ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
1	0,373	83	23	8,4	6,0	5,8
2	0,320	78	20	7,4	6,3	5,2
3	0,290	71	19	7,0	6,4	5,4
4	0,300	84	19	8,4	6,3	5,5

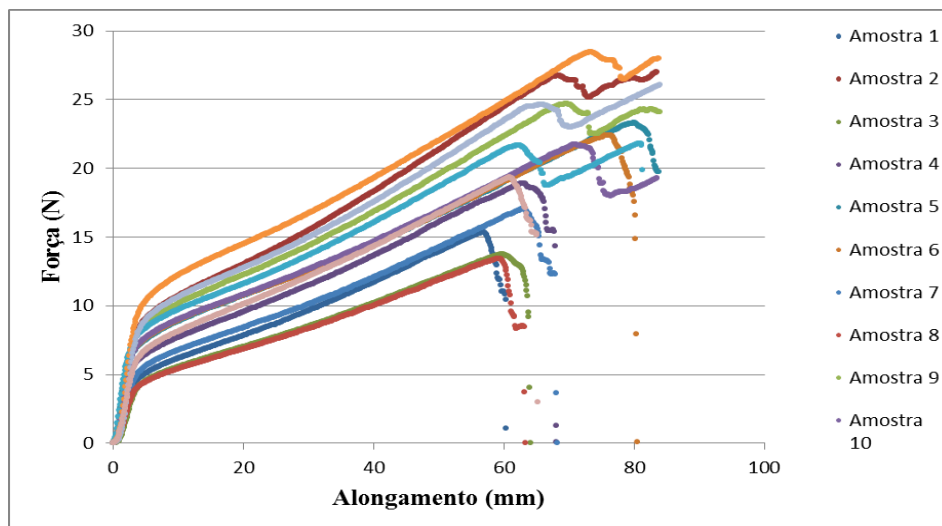


Figura A.5 - Força *versus* Alongamento das amostras de S9 traccionadas até à ruptura.

Tabela A.5 - Valores das amostras de S9 traccionadas até à ruptura.

Amostra	Espessura Inicial (mm)	Alongamento Máximo (mm)	Força Máxima (N)	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
1	0,447	57	15	5,6	3,4	4,6
2	0,693	84	27	8,0	3,9	5,5
3	0,423	60	14	5,7	3,2	4,5
4	0,510	63	19	6,4	3,7	5,3
5	0,587	80	23	7,9	4,0	6,2
6	0,583	76	22	7,4	3,8	6,4
7	0,450	63	17	6,3	3,8	5,0
8	0,380	59	13	5,9	3,5	4,9
9	0,643	70	25	7,0	3,8	5,8
10	0,520	71	22	6,9	4,2	6,1
11	0,543	81	22	8,2	4,0	5,9
12	0,693	73	28	7,0	4,1	6,0
13	0,610	84	26	8,5	4,3	5,9
14	0,527	61	19	6,5	3,7	4,3

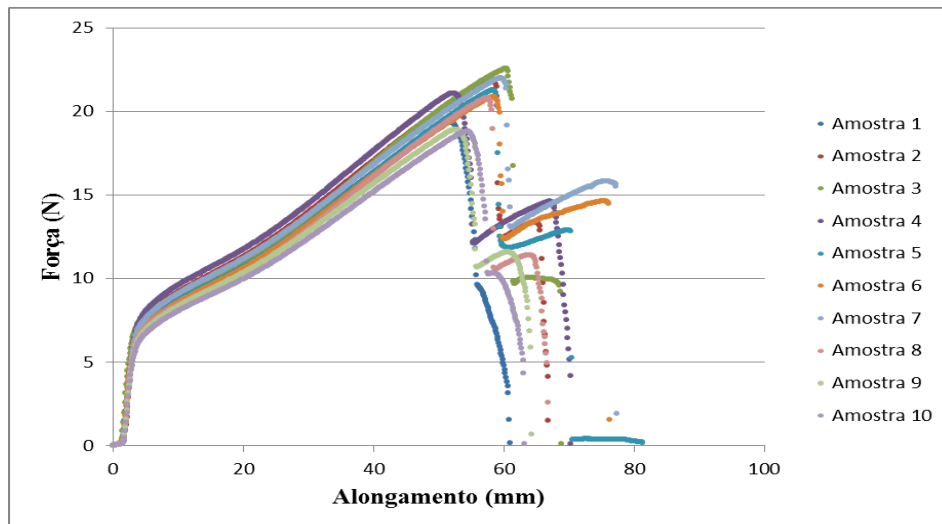


Figura A.6 - Força versus Alongamento das amostras de S10 traccionadas até à ruptura.

Tabela A.6 - Valores das amostras de S10 traccionadas até à ruptura.

Amostra	Espessura Inicial (mm)	Alongamento Máximo (mm)	Força Máxima (N)	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
1	0,400	52	19	4,9	4,8	13,0
2	0,403	58	22	6,1	5,4	11,0
3	0,337	60	23	5,9	6,7	15,0
4	0,430	52	21	5,1	4,9	12,0
5	0,393	58	21	5,9	5,4	12,0
6	0,440	58	21	5,8	4,7	11,0
7	0,440	60	22	5,9	5,0	11,0
8	0,383	57	21	5,6	5,4	10,0
9	0,437	53	19	5,4	4,3	9,8
10	0,427	55	19	5,5	4,4	11,0

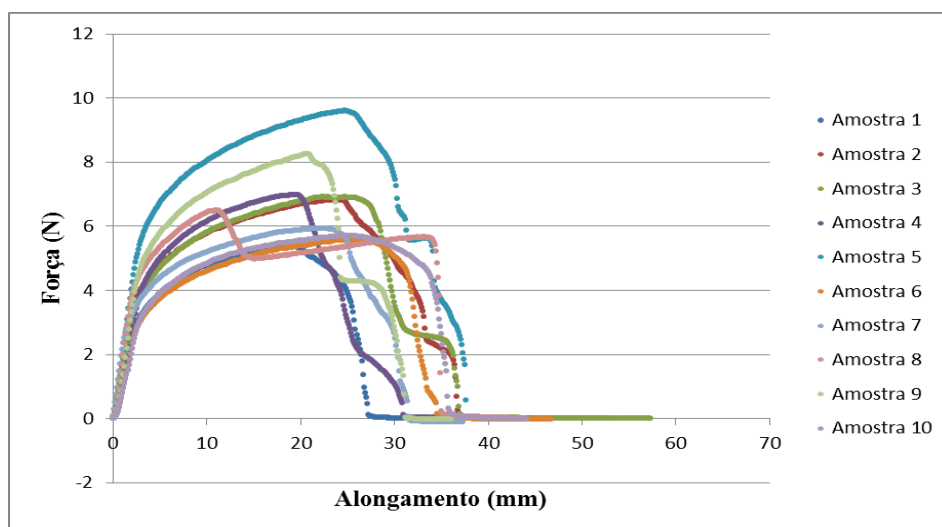


Figura A.7 - Força versus Alongamento das amostras de S11 traccionadas até à ruptura.

Tabela A.7 - Valores das amostras de S11 traccionadas até à ruptura.

Amostra	Espessura Inicial (mm)	Alongamento Máximo (mm)	Força Máxima (N)	Extensão à Ruptura	Tensão à Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)
1	0,217	18	5,4	1,9	2,5	6,9
2	0,183	23	6,8	2,2	3,7	12,0
3	0,200	22	6,9	2,3	3,4	9,5
4	0,237	19	7,0	2,0	2,9	8,3
5	0,360	25	9,6	2,4	2,7	8,2
6	0,180	27	5,6	2,8	3,1	8,3
7	0,213	23	5,9	2,2	2,8	10,0
8	0,217	11	6,5	1,1	3,0	12,0
9	0,307	21	8,3	1,9	2,7	8,9
10	0,160	25	5,7	2,4	3,6	8,4

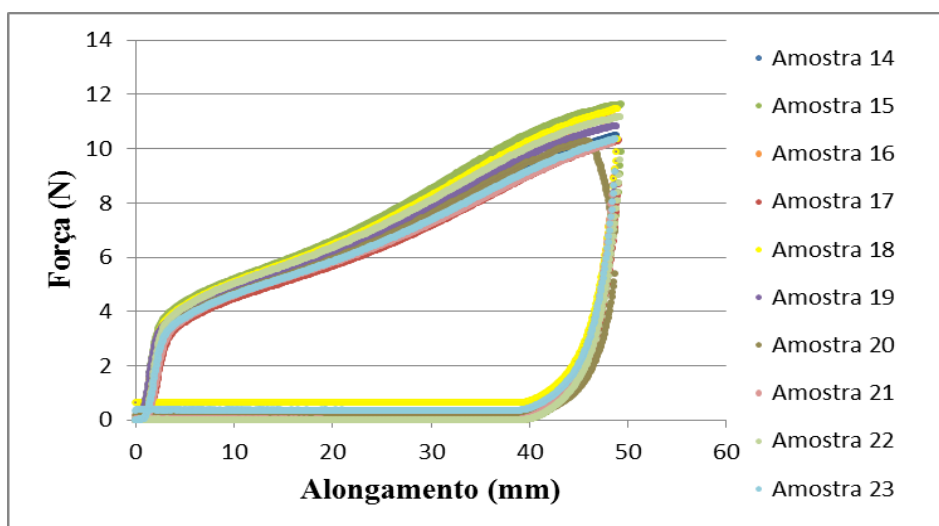


Figura A.8 - Força versus Alongamento das amostras de S6 sujeitas a testes de compressão.

Tabela A.8 - Valores das amostras de S6 sujeitas a testes de compressão.

Amostra	Tensão Final (MPa) Tracção	Tensão Inicial (MPa) Compressão	Alongamento (mm)	Espessura Inicial (mm)	Espessura Final (mm)
14	4,5	3,8	-9,5	0,233	0,057
15	5,2	4,4	-9,7	0,223	0,057
16	4,8	4	-9,7	0,233	-
17	4,4	3,7	-9,7	0,233	-
18	4,6	4,2	-10,0	0,247	0,060
19	4,8	4,1	-9,7	0,223	0,053
20	4,5	2,3	-9,8	0,230	0,067
21	4,2	3,4	-9,3	0,240	0,063
22	4,8	4,1	-10,0	0,233	0,060
23	4,4	3,9	-9,6	0,237	0,063



## Anexo II – Ciclos de Histerese

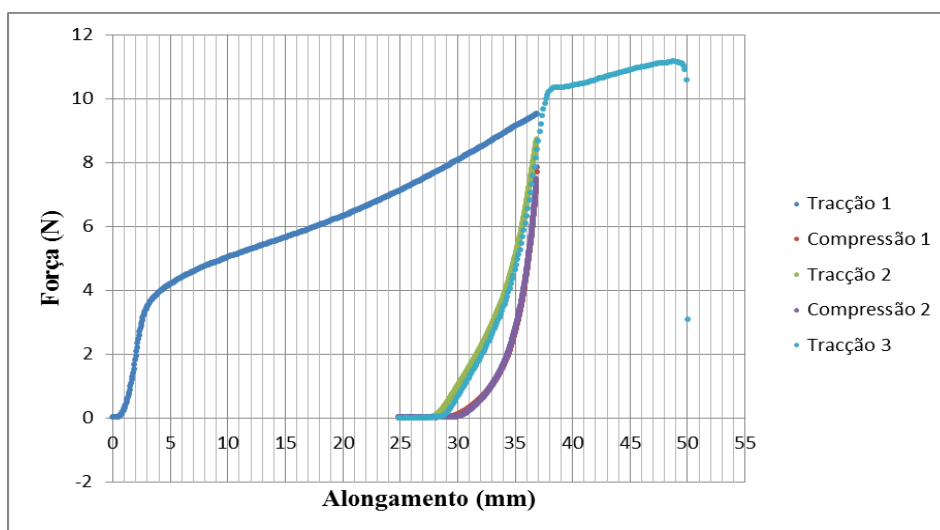


Figura A.9 – Força *versus* Alongamento da amostra 25 de S6

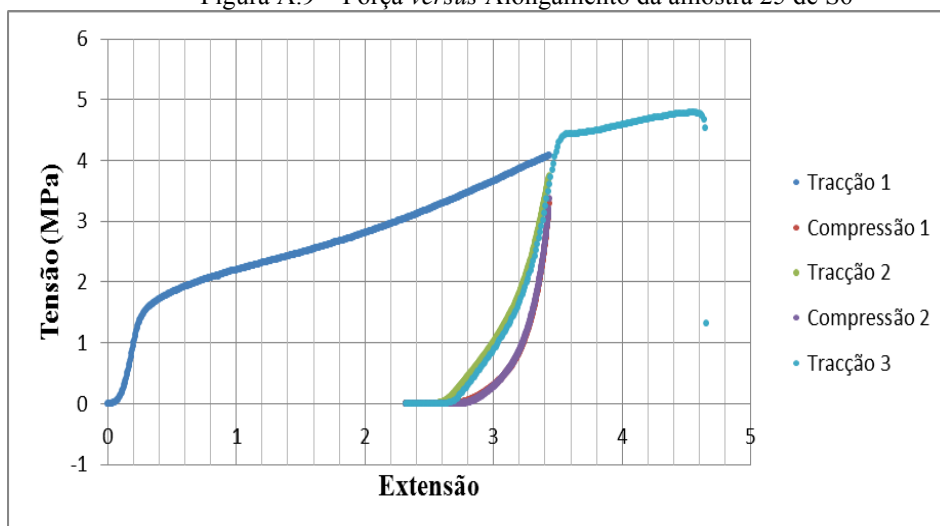


Figura A.10 – Tensão *versus* Extensão da amostra 25 de S6

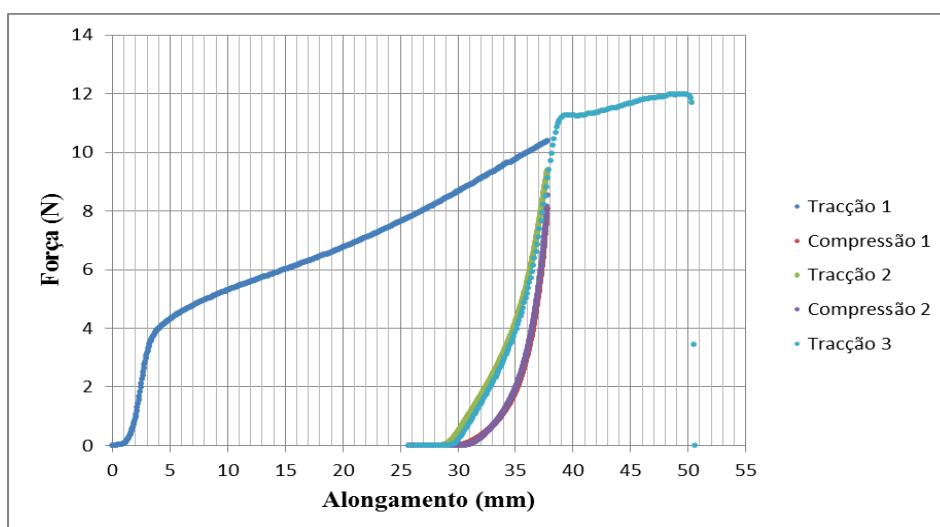


Figura A.11 – Força *versus* Alongamento da amostra 26 de S6

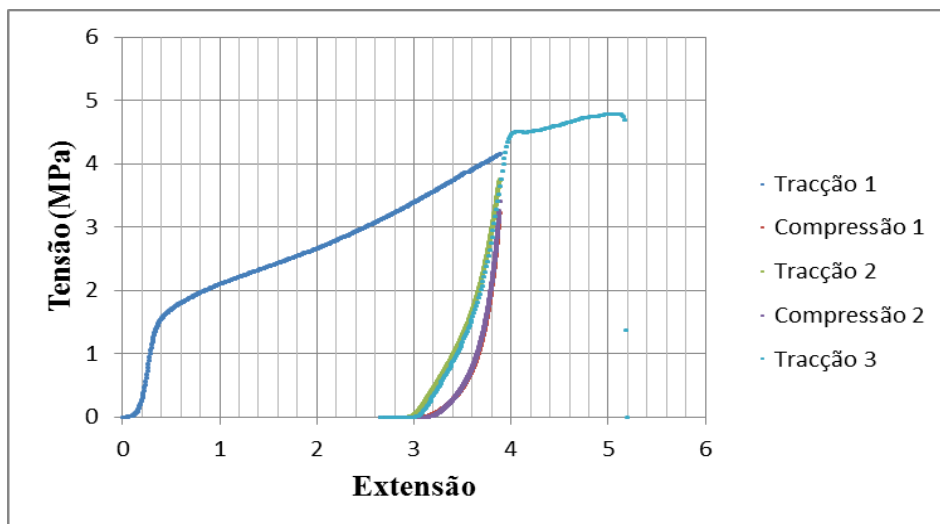


Figura A.12 – Tensão *versus* Extensão da amostra 26 de S6

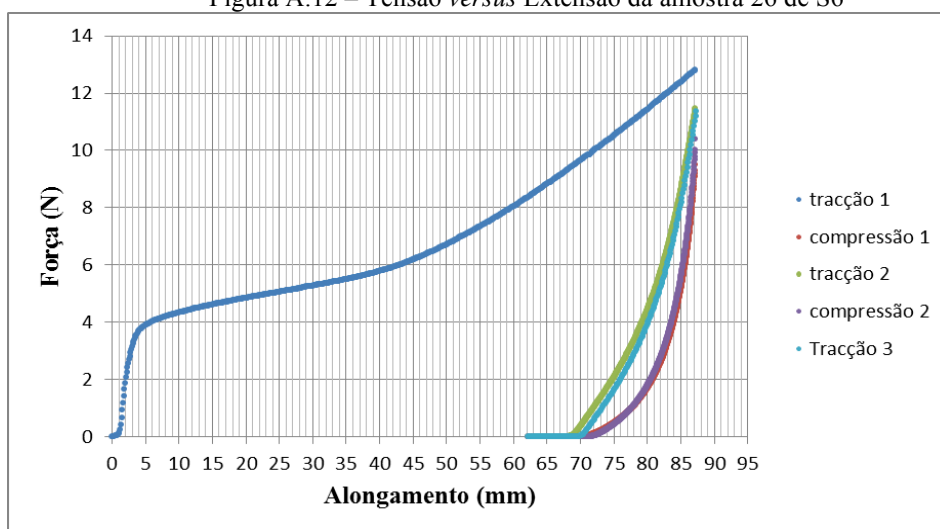


Figura A.13 – Força *versus* Alongamento da amostra 2 de S15

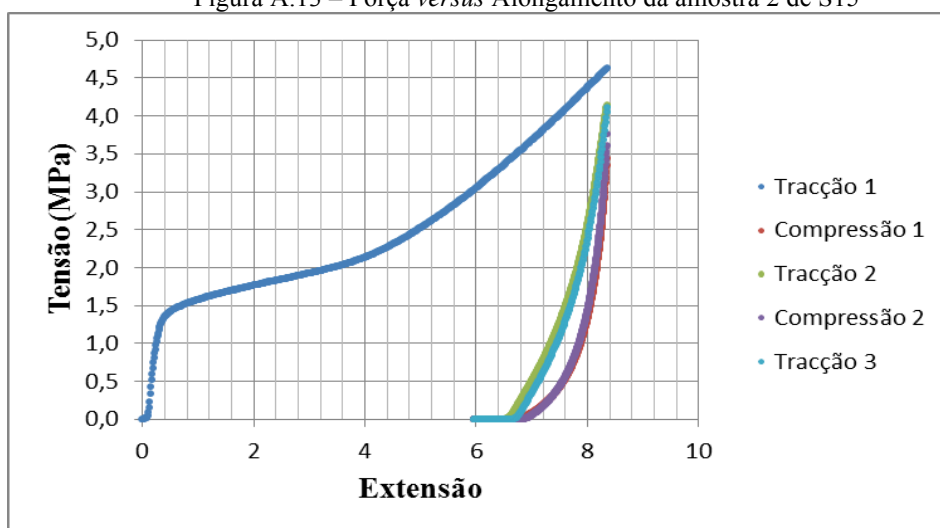


Figura A.14 – Tensão *versus* Extensão da amostra 2 de S15.

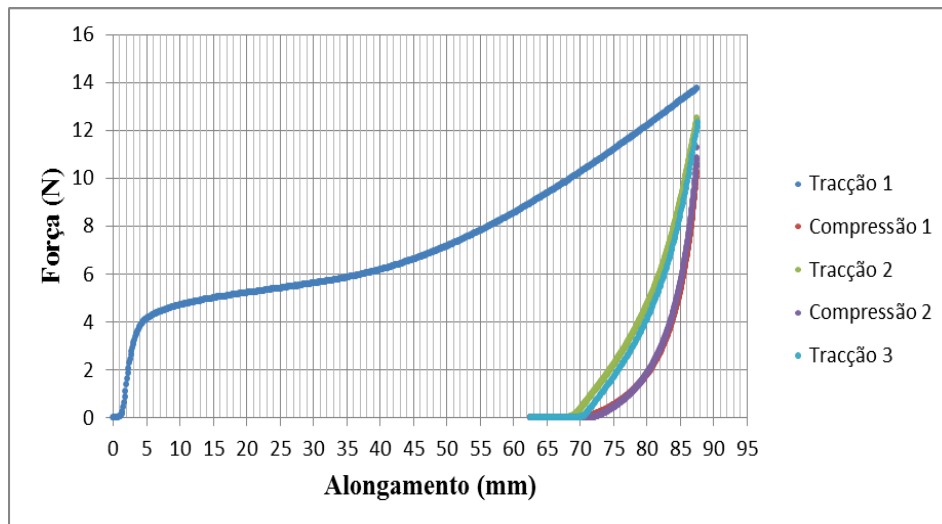


Figura A.15 – Força *versus* Alongamento da amostra 3 de S15.

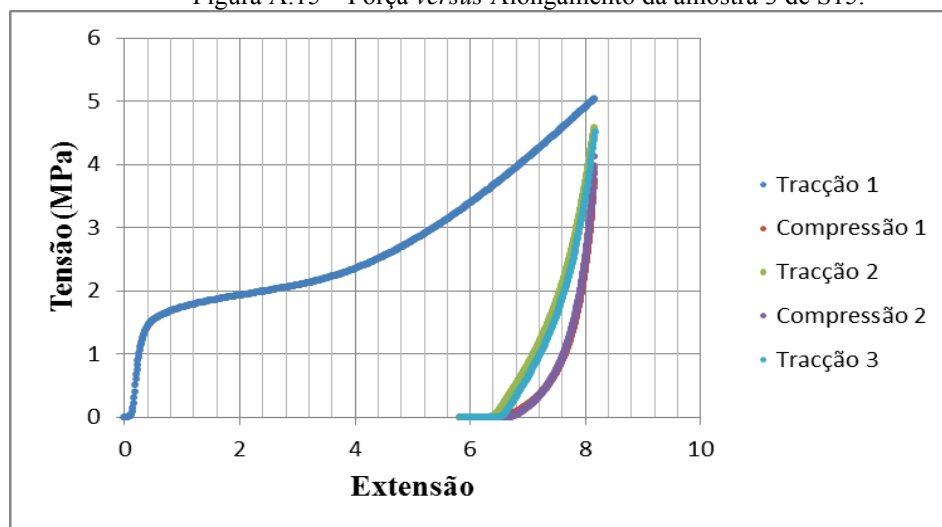


Figura A.16 – Tensão *versus* Extensão da amostra 3 de S15.

## Anexo III – Tabela de Fios Produzidos

### Solução S6

Tabela A.9 – Dimensões dos fios obtidos com o x-ato comum.

Amostra	Comprimento (cm)		Espessura (μm)		Largura (μm)		Calibre
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
1	16,8	46	63	30	595	316	6-0
2	17,8	-	50	-	690	-	-
3	16,3	26,2	60	33	538	277	-
4	18,8	24	63	33	706	457	5-0
5	18,1	50	50	33	576	395	5-0
6	20,1	41,3	67	58	390	245	5-0
7	20	43	67	55	395	256	5-0
8	20,6		67	43	428	214	6-0
9	18,7	41,5	70	45	407	249	5-0
10	17,1	41,5	70	43	437	251	5-0

Tabela A.10 – Dimensões dos fios obtidos com o x-ato de lâminas circulares e uma cartolina.

Amostra	Comprimento (cm)		Espessura (μm)		Largura (μm)		Calibre
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
1	19,5	40,5	110	85	508	217	5-0
2	20,7	54	107	53	484	210	5-0
3	21,6	54,5	120	58	491	171	5-0
4	20,3	47,5	113	63	514	219	5-0
5	20,4	44	110	58	514	232	5-0
6	20,6		120	28	514	232	5-0
7	20,4	54,5	107	43	510	169	6-0
8	18,3	39,1	107	53	518	251	5-0
9	20,6	41,2	143	45	511	287	5-0
10	20,4	49	93	48	499	270	5-0

Tabela A.11 – Dimensões dos fios obtidos com o x-ato de lâminas circulares e duas cartolinas.

Amostra	Comprimento (cm)		Espessura ( $\mu\text{m}$ )		Largura ( $\mu\text{m}$ )		Calibre
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
11	20,1	47,2	117	60	763	289	5-0
12	19,4	47	123	60	763	240	5-0
13	20,2	45,1	137	55	763	278	5-0
14	20,4	48,4	140	60	763	294	5-0
15	20,4	46	127	53	763	317	5-0
16	19,9	50,5	127	53	763	295	5-0
17	20	42,5	113	50	763	338	5-0
18	18,6	41,3	140	55	763	318	5-0
19	19,5	44	120	55	763	303	5-0
20	20,2	44,3	170	55	763	325	5-0

Tabela A.12 – Dimensões dos fios obtidos com o x-ato de lâminas circulares e três cartolinas.

Amostra	Comprimento (cm)		Espessura ( $\mu\text{m}$ )		Largura ( $\mu\text{m}$ )		Calibre
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
21	20,5	50,2	177	68	1020	374	4-0
22	19,7	44	207	63	1020	467	4-0
23	20	44	153	60	1020	458	4-0
24	19,7	45	160	63	1020	401	4-0
25	19,3	50	177	60	1020	289	5-0

### **Solução S15**

Tabela A.13 – Dimensões dos fios obtidos com o x-ato comum.

Amostra	Comprimento (cm)		Espessura ( $\mu\text{m}$ )		Largura ( $\mu\text{m}$ )		Calibre
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
1	19,6	40,7	67	30	539	373	5-0
3	17,4	47,6	83	40	637	471	5-0
4	19,5	32	83	40	580	454	5-0
5	19,9	56,2	80	28	595	336	6-0

Tabela A.14 – Dimensões dos fios obtidos com o x-ato de lâminas circulares e duas cartolinas.

Amostra	Comprimento (cm)		Espessura ( $\mu\text{m}$ )		Largura ( $\mu\text{m}$ )		Calibre
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
25	14,4	39,5	423	73	763	533	4-0
26	14,7	25	363	53	763	380	5-0

Tabela A.15 – Dimensões dos fios obtidos com o x-ato de lâminas circulares e três cartolinas.

Amostra	Comprimento (cm)		Espessura ( $\mu\text{m}$ )		Largura ( $\mu\text{m}$ )		Calibre
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	
18	17,1	29,5	237	145	1020	399	3-0
19	18,4	44	297	70	1020	497	4-0
20	17,2	30	250	60	1020	418	4-0
21	19,5	43	213	70	1020	452	4-0